

Comparação de cromatografia líquida de alta eficiência e titulação em meio não aquoso para quantificação de alprazolam em cápsulas manipuladas

Francisco Gonçalves de Oliveira Júnior¹; Fernanda Stoupa de Sá¹; Gerson Antônio Pianetti¹; Isabela da Costa César^{1*}

¹Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, UFMG, Belo Horizonte, MG, Brasil

RESUMO

O objetivo pretendido com o presente trabalho foi avaliar a adequabilidade e viabilidade de dois métodos analíticos para quantificação de alprazolam em cápsulas manipuladas: cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e titulação em meio não aquoso. A quantificação de alprazolam por CLAE fase normal foi realizada em coluna de sílica (30 x 4,6 mm) e fase móvel composta por acetonitrila, clorofórmio, butanol, água e ácido acético glacial (85:8:5:2:0,05). No método titulométrico, as amostras foram dissolvidas em mistura de ácido acético glacial e anidrido acético (3:2) e tituladas com ácido perclórico 0,1 M até o segundo ponto de inflexão. O teor médio de alprazolam obtido por CLAE foi 94,61%, demonstrando a adequabilidade do método proposto. Já as análises por titulação apresentaram teores equivalentes a 128,87% e 91,49% do valor rotulado, devido a interferências detectadas pela presença de excipientes da formulação. A adaptação e o desenvolvimento de métodos analíticos simples e viáveis são de extrema importância para avaliar e garantir a qualidade de medicamentos manipulados, de acordo com as exigências da legislação vigente.

Palavras-chave: Alprazolam. Doseamento. Medicamentos manipulados. CLAE. Titulação em meio não aquoso.

INTRODUÇÃO

Atualmente, os benzodiazepínicos são a classe de medicamentos mais prescritos para tratamento de ansiedade e transtorno do pânico, podendo ser associados a antidepressivos de diferentes classes (Hardman & Limbird, 2003). Alprazolam é um derivado triazólico benzodiazepínico de ação curta, que apresenta atividade ansiolítica, sedativa e relaxante muscular (Fig 1) (Jonas & Cohon, 1993). Este fármaco atravessa facilmente a barreira hematoencefálica e atua no sistema nervoso central,

ligando-se de forma seletiva ao complexo receptor ácido gama-amino butílico (GABA_A) e promovendo redução geral da atividade cerebral (Sweetman, 2005; Joris & Edmund, 2004).

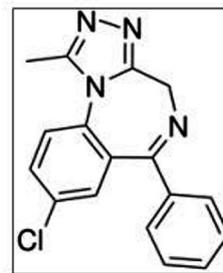


Figura 1 – Estrutura química do alprazolam.

A manipulação de medicamentos por farmácias magistrais apresenta uma série de vantagens que vão desde o menor custo das formulações até dosagens individualizadas e adequação às necessidades dos pacientes. Entretanto, torna-se imprescindível garantir a qualidade dos medicamentos manipulados e dispensados à população. As exigências em relação a produtos manipulados vêm aumentando de forma significativa, fato que se consolidou com a publicação da Resolução RDC n°87, em 2008, pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil, 2008). Para comprovar e garantir a qualidade de seus produtos, as farmácias magistrais, como preconizado pela RDC n°87, devem apresentar constante preocupação com o enriquecimento técnico-científico e devem realizar análises para o controle de qualidade de no mínimo uma fórmula a cada dois meses. Tais análises podem ser realizadas em laboratório analítico próprio ou terceirizado.

Dentre os testes físico-químicos para controle de qualidade, o doseamento apresenta importância considerável para avaliação do teor do fármaco na forma farmacêutica. A Farmacopeia Americana (2009), 32ª edição apresenta monografias de alprazolam matéria-prima e comprimidos, cujos doseamentos são realizados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Nas Farmacopeias Britânica (2008) e Portuguesa 8ª edição (2005), constam apenas a monografia de alprazolam matéria-prima, empregando titulação em meio não-aquoso

Autor correspondente: César, I.C. - Departamento de Produtos Farmacêuticos Faculdade de Farmácia - Universidade Federal de Minas Gerais - Av. Pres. Antônio Carlos, 6627 - CEP.31270-901 - Belo Horizonte - MG - Brasil tel.55(31)3409-6966 - fax 55(31)34096976 - e-mail: isacesar@bol.com.br.

para quantificação do fármaco. A Farmacopeia Brasileira 4ª edição (1988) não possui monografia para matéria-prima ou formas farmacêuticas de alprazolam. Assim, verifica-se a ausência de monografias e métodos oficiais para quantificação de alprazolam em cápsulas, de forma que as farmácias magistrais ou laboratórios devem fazer adaptações de outros métodos para análise das cápsulas manipuladas.

O objetivo pretendido com o presente trabalho foi comparar dois métodos de doseamento, CLAE e titulação em meio não-aquoso, para quantificação de alprazolam em cápsulas manipuladas. Foram realizadas adaptações do método cromatográfico descrito na Farmacopeia Americana (2009), 32ª edição, para alprazolam comprimidos e do método titulométrico descrito nas Farmacopeias Britânica (2008) e Portuguesa (2005), 8ª edição, para alprazolam matéria-prima. Foi feita avaliação da adequabilidade dos métodos à análise proposta, assim como da viabilidade de execução de ambos em farmácias magistrais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Matérias-primas e excipientes

Para manipulação das cápsulas de alprazolam 1 mg, foi utilizada matéria-prima proveniente do fornecedor Deg, lote AB.2500.0216. Os excipientes empregados no processo foram: amido (Deg, lote HJ023), talco (Deg, lote N-50619-6), dióxido de silício coloidal (Henrifarma, lote 3158031314) e lauril sulfato de sódio (Henrifarma, lote HN8B208852). As substâncias químicas de referência de alprazolam e triazolam (padrão interno) foram provenientes da Farmacopeia Americana.

Manipulação das cápsulas de alprazolam 1 mg

Foram manipuladas 100 cápsulas de alprazolam 1 mg. A escolha da cápsula deu-se a partir do volume aparente dos pesos dos pós a serem acondicionados, sendo utilizados invólucros de tamanho número 4. Para completar a diferença de volume entre o tamanho das cápsulas e o fármaco, foram utilizados excipientes, nas seguintes proporções: talco (10%), lauril sulfato de sódio (2%), dióxido de silício coloidal (1%) e amido (q.s.p.).

Realizou-se a pesagem de todos os componentes da fórmula em balança semi-analítica. Os pós foram transferidos para um gral de porcelana e a homogeneização foi feita por diluição geométrica, em movimentos circulares, até a finalização completa dos excipientes. Em seguida, a mistura foi tamisada em malha 30 e foi feita a transferência para um copo descartável com tampa, acoplado no equipamento Tepron Mixer Plus, onde a mistura ficou em homogeneização por 5 minutos.

Utilizando uma placa própria, a mistura de pós contendo alprazolam foi, então, encapsulada manualmente e foram preenchidas 100 cápsulas número 4. As cápsulas foram destampadas e, com auxílio de espátula, toda mistura foi transferida para o encapsulador e espalhada de forma uniforme. Foi realizado fechamento e limpeza das cápsulas, e as mesmas foram embaladas e rotuladas.

Análise das cápsulas manipuladas

A determinação de peso e a uniformidade de conteúdo das cápsulas de alprazolam 1 mg foram realizadas segundo procedimentos preconizados pela Farmacopeia Brasileira 4ª edição. Os limites de variação de peso em cápsulas gelatinosas duras são de $\pm 10,00\%$ para cápsulas com até 300 mg de massa total e $\pm 7,5\%$ para cápsulas acima de 300 mg. Para cumprir com os requisitos do teste de uniformidade de conteúdo, a quantidade do fármaco em cada uma das 10 unidades testadas deve estar situada entre 85,0% e 115,0% do valor declarado e o desvio padrão relativo (DPR) deve ser igual ou menor do que 6,0%.

O doseamento das cápsulas de alprazolam 1 mg foi realizado empregando-se dois métodos: CLAE e titulação em meio não aquoso. Para as análises cromatográficas, foi feita adaptação do procedimento descrito na Farmacopeia Americana (2009), 32ª edição, para alprazolam comprimidos. Inicialmente, preparou-se solução de triazolam (padrão interno) a 250 $\mu\text{g/ml}$ em acetonitrila. Pesou-se quantidade do pó das cápsulas equivalente a 5 mg de alprazolam e transferiu-se para balão volumétrico de 200 ml. Adicionaram-se 2 ml de água e 20 ml de solução de triazolam e agitou-se vigorosamente por 10 min. O volume foi ajustado com acetonitrila e a solução foi filtrada, de modo a obter concentração final de 25 $\mu\text{g/ml}$. Preparou-se solução padrão empregando-se o mesmo procedimento. As análises foram realizadas em coluna de sílica de fase normal (30 x 4,6 mm) e fase móvel composta por acetonitrila, clorofórmio, butanol, água e ácido acético glacial (85:8:5:2:0,05), com fluxo de 2 ml/min. O volume de injeção foi 20 μl e a detecção foi realizada na região do ultravioleta, a 254 nm.

O método por titulação em meio não aquoso foi adaptado das monografias descritas nas Farmacopeias Britânica (2008) e Portuguesa (2005), 8ª edição, para o doseamento de alprazolam matéria-prima. Uma quantidade do pó das cápsulas equivalente a 50 mg de alprazolam foi transferido para erlenmeyer e adicionaram-se 50 ml de mistura de ácido acético glacial e anidrido acético (3:2). Titulou-se com ácido perclórico 0,1 M, previamente padronizado com bifalato de potássio, até o segundo ponto de inflexão. O ponto final foi determinado potenciométricamente. Cada ml de ácido perclórico 0,1 M equivale a 15,44 mg de alprazolam.

RESULTADOS

O teste de determinação de peso foi realizado considerando-se o peso do conteúdo das cápsulas. O peso médio obtido com 20 unidades foi 104,34 mg, o que determina a aplicação do limite de variação da ordem de 10,0% conforme preconizado pela Farmacopeia Brasileira (1988). Todas as cápsulas avaliadas mantiveram-se dentro desta faixa, sendo que a menor variação obtida foi -3,49% e a maior variação foi 4,85%, em relação ao peso médio. O gráfico representativo dos resultados obtidos no teste de determinação de peso está demonstrado na Figura 2.

O teste de uniformidade de conteúdo foi realizado por cromatografia líquida de alta eficiência, empregando-se 10 cápsulas. Todas as unidades analisadas apresentaram teor dentro da faixa de 85,0% a 115,0% do valor rotulado.

O menor teor obtido foi 92,33% e a cápsula com teor mais elevado foi 102,61%. O desvio padrão relativo entre as dez unidades foi 3,67%, valor abaixo do limite máximo permitido (6,0%).

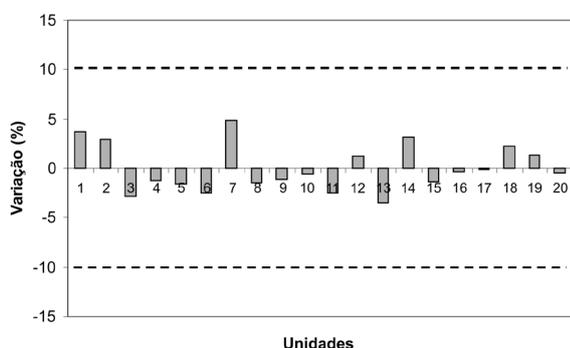


Figura 2 – Gráfico representativo do teste de determinação de peso realizado com 20 cápsulas de alprazolam 1 mg.

O espectro de absorção do alprazolam nesta região, na faixa de 210 a 350 nm, está representado na Figura 3. Podem-se observar dois máximos de absorção no espectro, em 222 nm e 248 nm. Para detecção do fármaco após a separação cromatográfica, o comprimento de onda 254 nm foi utilizado, segundo procedimento da Farmacopeia Americana (2009), 32ª edição.

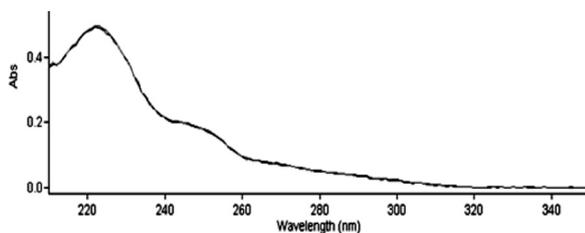


Figura 3 – Espectro de absorção na região do ultravioleta de alprazolam a 25 µg/ml em acetonitrila.

Empregando-se o método cromatográfico, o teor médio de alprazolam obtido foi 94,61% da quantidade rotulada, valor dentro das especificações farmacopeicas (90,0 a 110,0%). Por outro lado, duas análises foram realizadas empregando-se titulação em meio não aquoso. Os resultados obtidos por este método foram, respectivamente, 128,9% e 91,5% do valor rotulado.

DISCUSSÃO

A conformidade com os testes de determinação de peso e uniformidade de conteúdo indica que a formulação e o procedimento empregado para a manipulação das cápsulas de alprazolam propiciaram homogeneidade adequada da mistura de pós em cada cápsula individual. Estes parâmetros são importantes para a eficácia e segurança do medicamento manipulado ao longo do tratamento.

O doseamento das cápsulas de alprazolam foi realizado por dois métodos distintos: CLAE e titulação em meio não aquoso. Empregando-se o método cromatográfico, os componentes da formulação analisada são inicialmente

separados, para serem em seguida quantificados. Esta separação inicial permite maior seletividade do método, de forma que a resposta fornecida pelo equipamento corresponde apenas ao analito de interesse, mesmo que ele esteja inserido em uma matriz complexa. O alprazolam possui em sua estrutura anéis aromáticos e cromóforos estendidos, fazendo com que o fármaco apresente absorção característica na região do ultravioleta, permitindo a detecção em 254 nm.

O método por titulação em meio não aquoso descrito para alprazolam matéria-prima foi adaptado para doseamento nas cápsulas. Como alprazolam é uma base orgânica nitrogenada, é possível empregar titulação ácido-base para sua quantificação. Conforme descrito nas Farmacopeias Britânica (2008) e Portuguesa (2005), 8ª edição, a titulação deve ser realizada até o segundo ponto de inflexão da curva, de forma que dois nitrogênios básicos da molécula de alprazolam são envolvidos na reação.

Se por um lado o método cromatográfico foi conclusivo, pode-se observar que os resultados dos doseamentos realizados pelo método titulométrico foram bastante discrepantes entre si, sendo que o valor obtido na primeira análise se encontra fora da faixa farmacopeica especificada. O teor consideravelmente elevado (128,87%) obtido na primeira análise pode ser atribuído à interferência pelos excipientes da formulação, que podem ter reagido com o ácido perclórico durante o processo de titulação. Constatou-se, ainda, a dificuldade de determinação dos pontos de inflexão da curva de titulação. Desta forma, durante a segunda análise, não foi possível detectar o segundo ponto de inflexão, conforme preconizado no procedimento farmacopeico. Tal fato levou à obtenção de um teor significativamente baixo (91,49%), que provavelmente não corresponde à quantidade real de alprazolam presente nas cápsulas.

Assim, verifica-se que o método por titulação em meio não aquoso, neste caso, não se mostrou adequado para quantificação de alprazolam nas cápsulas. A presença dos excipientes da formulação no meio de titulação promoveu interferências significativas no método, por meio da reação com ácido perclórico, além de dificultar a detecção dos pontos de inflexão. Já cromatografia líquida de alta eficiência forneceu resultados precisos e confiáveis para quantificação de alprazolam em cápsulas, e apresentou maior seletividade em relação à presença de excipientes, quando comparada ao método titulométrico. Entretanto, a cromatografia líquida de alta eficiência trata-se de um método consideravelmente caro e a execução de análises por CLAE em farmácias magistrais apresenta baixa viabilidade por inúmeros fatores.

Tendo em vista as atuais exigências em relação à qualidade dos medicamentos manipulados, torna-se imprescindível o desenvolvimento de métodos simples e viáveis para quantificação de fármacos em cápsulas e outras formas farmacêuticas elaboradas em farmácias magistrais. Os métodos de análise preconizados pela Farmacopeia Brasileira e outras farmacopeias oficiais são voltados principalmente para indústria farmacêutica, de forma que para doseamento de fármacos em cápsulas, deve-se constantemente fazer adaptações de métodos farmacopeicos descritos para comprimidos ou matérias-primas. Além

disso, grande parte dos doseamentos farmacopeicos utiliza cromatografia líquida de alta eficiência, método consideravelmente mais complexo.

A realização do controle de qualidade de medicamentos manipulados em laboratório analítico da própria farmácia magistral torna as análises mais viáveis do ponto de vista financeiro, quando o procedimento analítico não exige equipamentos e aparatos sofisticados. Apesar da necessidade de maior investimento inicial para montar e equipar o laboratório, o retorno financeiro a médio e longo prazo pode levar à redução dos custos das análises realizadas. Atualmente, uma parte significativa das farmácias magistrais já possui espectrofotômetro UV-Vis e pessoal habilitado para realização de análises de controle de qualidade. Tais medidas são de grande importância para maior controle do processo de produção e para garantir a qualidade final dos medicamentos manipulados.

O medicamento magistral, devido à sua especificidade, não é passível de ser avaliado em sua totalidade. Considerando, entretanto, que a qualidade do produto magistral depende mais de seu processo do que do produto final, é imprescindível que haja um estudo aprofundado acerca do desenvolvimento farmacotécnico, levando em consideração todas as possibilidades de interação entre os componentes.

Parcerias entre as Farmácias e as Universidades para o desenvolvimento farmacotécnico são o caminho mais seguro para a elaboração de um produto confiável com respeito ao usuário.

Comparando-se os métodos para quantificação de alprazolam em cápsulas manipuladas, titulação em meio não aquoso não apresentou seletividade adequada em relação aos excipientes da formulação, levando à obtenção de resultados discrepantes. Verifica-se a necessidade de uma pesquisa mais aprofundada, não só para se obter conhecimento das incompatibilidades entre os componentes da fórmula, mas também para que se possa obter um produto passível de ser avaliado analiticamente por procedimentos mais econômicos com a mesma confiabilidade.

Por outro lado, cromatografia líquida de alta eficiência mostrou-se um método viável e confiável para o doseamento proposto, podendo ser empregado em análises rotineiras de controle de qualidade. Entretanto, o desenvolvimento de métodos analíticos simples e econômicos, que podem ser executados em farmácias magistrais, é imprescindível para garantir a qualidade dos medicamentos manipulados e distribuídos à população.

ABSTRACT

Comparison of high performance liquid chromatography and non-aqueous titration for the quantitation of alprazolam in compounded capsules

The aim of this study was to assess the suitability and viability of two analytical methods for the quantitation of alprazolam in compounded capsules: high performance liquid chromatography (HPLC) and non-aqueous titration. Quantitation by normal phase HPLC was performed with a silica column (30 x 4.6 mm) and a mobile phase composed of acetonitrile, chloroform, butyl alcohol, water and glacial acetic acid (85:8:5:2:0.05).

In the titration method, samples were dissolved in a mixture of glacial acetic acid and acetic anhydride (3:2) and titrated potentiometrically with 0.1 M perchloric acid until the second inflection point. The mean content of alprazolam obtained by HPLC was 94.61% of the label value, showing the suitability of the proposed method. On the other hand, the titration analysis returned contents equivalent to 128.87% and 91.49% of the label value, owing to interference caused by the presence of formulation excipients. The adaptation and development of simple and viable analytical methods are extremely important, in order to assay and ensure the quality of compounded formulations, according to the requirements of the current legislation.

Keywords: Alprazolam. Assay. Compounded formulations. HPLC. Non-aqueous titration.

REFERÊNCIAS

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 87, de 21 de novembro de 2008. Altera o regulamento técnico sobre boas práticas de manipulação em farmácias. Diário Oficial da União, 24 de novembro de 2008.

British Pharmacopeia. London: Her Majesty's Stationary Office; 2008.

Farmacopéia Brasileira. 4 ed. São Paulo: Atheneu; 1988.

Farmacopéia Portuguesa. 8 ed. Lisboa: Imprensa Nacional; 2005.

Hardman JG, Limbird LE, editors. Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica. 10. ed. Chicago: Mac GrawHill; 2003.

Jonas JM, Cohon MS. A comparison of the safety and efficacy of alprazolam versus other agents in the treatment of anxiety, panic and depression: a review of the literature. J Clin Psych. 1993;54(25):46-8.

Joris CV, Edmund PV. Clinical pharmacology, clinical efficacy and behavioral toxicity of alprazolam: a review of the literature. CNS Drug Rev. 2004;10(1):45-76.

Sweetman SC, editor. Martindale: The complete drug reference. 34th. ed. London: Pharmaceutical Press; 2005.

The United States Pharmacopeia. 32nd. ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2009.

Recebido em 31 de março de 2011.

Aceito para publicação em 12 de setembro de 2011.