

DETERMINAÇÃO DE CLORIDRATO DE METOCLOPRAMIDA EM PREPARAÇÕES FARMACÊUTICAS VIA ANÁLISE POR INJEÇÃO EM FLUXO COM DETECÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA. Thiago Bernardo Cavassani, Leonardo Pezza, Helena Redigolo Pezza, Patrícia Los Weinert – Química - Química-Departamento de Química - Orgânica Instituto de Química –Campus de Araraquara.

Inúmeras substâncias são conhecidas atualmente por apresentar atividade biológica significativa, dentre as quais merece atenção hidrocloreto de Metoclopramida (MTC) [4-amino-5-cloro-N-(2-dietilaminoetil)-2-metoxibenzamida hidrocloreto monohidratado], ou simplesmente cloridrato de metoclopramida. Esta substância é um derivado do ácido paraminobenzoico, relacionado com a procainamida, a qual desenvolve atuação preferencialmente sobre o sistema nervoso central (SNC) e periférico. [1]

Medicamentos contendo MTC são amplamente comercializados como antiemético em distúrbios da motilidade gastrointestinal, como terapêutica auxiliar na doença do refluxo gastroesofágico, nos estados de hipomotilidade gástrica, náuseas e vômitos de origem central e periférica (cirurgia, doenças metabólicas e infecciosas, nos efeitos secundários de fármacos como os antineoplásicos e ainda de radioterapia). Utiliza-se a metoclopramida também como terapia auxiliar nos procedimentos radiológicos do trato gastrointestinal. [2]

Diversas metodologias são descritas na literatura para a determinação quantitativa de MTC, entretanto, grande parte desses métodos requer procedimentos laboriosos e morosos, além de utilizarem equipamentos onerosos e sofisticados, tornando-os dessa maneira pouco atrativos para serem empregados em análises de rotina, no qual rapidez e baixo custo são imprescindíveis. Assim, passa a ser imprescindível a disponibilidade de métodos e equipamentos analíticos capazes de fornecer resultados confiáveis, de forma simples e com custo adequado ao comércio de manipulação.

A espectrofotometria UV-VIS é a técnica analítica mais empregada nos laboratórios de rotina em função de seu baixo custo relativo, da facilidade de operação, da sensibilidade atingida, economia no consumo de amostra/reagentes, velocidade de processamento etc. O acoplamento desta técnica a sistemas de injeção em fluxo (FIA) tem se mostrado versátil em função da seletividade, rapidez e sensibilidade atingidas, bem como da facilidade de operar etapas de separação e/ou pré-concentração em condições altamente repetitivas [3].

A análise por injeção em fluxo (FIA) pode ser definida como um processo que permite a automatização de procedimentos analíticos, no qual alíquotas de amostra (e eventualmente de reagentes) são inseridas em uma solução que as transporta através do percurso analítico. Durante o percurso, a amostra sofre dispersão na solução transportadora, produzindo uma zona de amostra caracterizada pela existência de gradientes de concentração. Caso necessário, reações químicas podem ocorrer durante o transporte da zona de amostra em direção ao sistema de detecção. Em função da existência dos gradientes de concentração e da medida ser feita com a zona de amostra em movimento em relação ao sistema de detecção, obtém-se sinais transientes, cuja altura pode ser relacionada à concentração inicial da espécie de interesse [4].

Para estimar os efeitos das principais variáveis físicas e químicas que influenciam na resposta do sistema FIA para determinação de MTC em preparações farmacêuticas, utilizou-se o planejamento fatorial dos experimentos, que é uma importante etapa para o desenvolvimento de um método analítico, pois este visa à determinação das condições ótimas do método em questão, realizando o menor número de experimentos possível. O planejamento fatorial não propõe uma rota única a ser seguida, mas direciona a condução dos experimentos de forma a atingir a meta estabelecida. Sendo assim, deve-se: selecionar as variáveis independentes a serem avaliadas; selecionar os níveis em que cada variável será avaliada e projetar o planejamento do experimento de forma que possa ser obtida o tipo de informação desejada [5]

Para tanto, a influência dos efeitos individuais das variáveis químicas (concentração de ácido clorídrico, da concentração de p-dimetilaminocinamaldeído e a concentração de SDS) e físicas (velocidade de rotação da bomba, comprimento da bobina e comprimento da alça de amostragem) na

Bolsa: CNPq/PIBIC

medida de absorvância do produto colorido formado foram estudadas a partir de um planejamento fatorial 2^3 para três variáveis em dois níveis [baixo (-1) e alto (+1)], sendo realizados oito experimentos e em duplicata.

Para obter a superfície de resposta que indicaria as condições ótimas para as diferentes variáveis selecionadas, utilizou-se um planejamento composto central através do qual foram avaliadas em cinco níveis as variáveis químicas: concentração de p-DACA e concentração de SDS, e as físicas: volume de amostra injetado e comprimento da bobina reacional; sendo o experimento no ponto central realizado em quadruplicata. Os resultados foram utilizados para geração da superfície de resposta utilizando o programa Statistica versão 6.0.

A metoclopramida, possuindo um grupo amino aromático primário, reage instantaneamente com o p-dimetilaminocinamaldeído (p-DACA), [6]. É conhecido na literatura que meios micelares são capazes de mudar o equilíbrio, a cinética e as propriedades espectrais, e isto tem sido usado para melhorar as características dos procedimentos analíticos [7]. Após diversos testes, foi constatado um aumento de 62 vezes na sensibilidade analítica, utilizando-se meio micelar (SDS) para a promoção da reação colorimétrica proposta.

Os resultados obtidos do planejamento fatorial dos experimentos mostraram claramente os parâmetros que mais influenciavam na resposta do sistema. Dessa forma, constatou-se que a influência da concentração do ácido clorídrico na reação é pequena, enquanto que a concentração de SDS e p-DACA constituem as variáveis químicas mais importantes, quando ajustados no nível mais baixo e alto respectivamente. Já em relação as variáveis físicas, o mesmo estudo demonstrou que a influência da velocidade de rotação da bomba peristáltica na resposta do sistema era pequena, enquanto que o volume de amostra injetado ajustado no nível mais alto e o comprimento da bobina reacional ajustado no nível mais baixo constituíam as variáveis físicas mais importantes.

Diante dos resultados obtidos no estudo para triagem das variáveis, construiu-se a superfície de resposta para modelagem e análise da forma com que a resposta de interesse (medida da absorvância do produto violeta) é simultaneamente influenciada pelas seguintes variáveis químicas: (concentração de p-DACA e volume de SDS) e físicas (volume de amostra injetado e comprimento da bobina reacional), utilizando-se para tal um planejamento composto central cujos resultados foram analisados usando o programa Statistica, versão 6.0. Analisando as superfícies abaixo (Figuras 1 e 2), percebe-se que uma região de máximo valor de absorvância situada na área mais escura do gráfico representa as condições experimentais ótimas. Observa-se também que nesta região está localizado o ponto central do planejamento. Realizaram-se os experimentos em replicata nas condições experimentais otimizadas, determinadas pelo modelo matemático, para verificação da concordância entre o resultado obtido experimentalmente com aquele calculado pelo programa. Os resultados obtidos experimentalmente mostram-se concordantes àquele predito, indicando a boa confiabilidade do modelo matemático obtido. Assim, as concentrações finais dos reagentes otimizadas são: SDS $6,8 \times 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$; p-DACA 0,068%(m/v) preparada em HCl 2 % (v/v) serão transferidas para o sistema em fluxo.

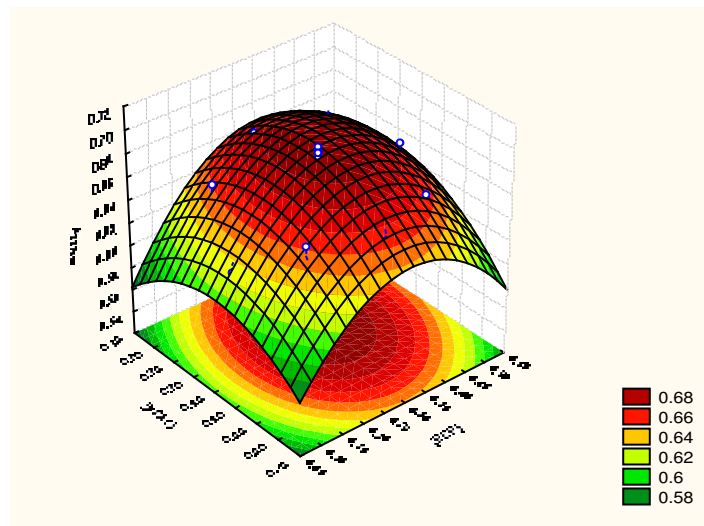


Figura 1. Superfície de resposta otimizada para a medida de absorbância em 565 nm em função das variáveis: concentração de p-DACA % (m/V) e volume de SDS 0,10 mol L⁻¹ (μL).

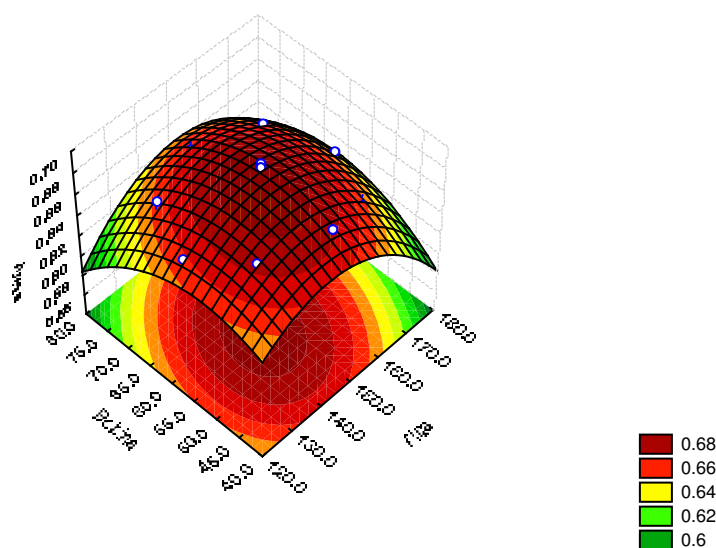


Figura 2. Superfície de resposta otimizada para a medida de absorbância em 565 nm em função das variáveis: tamanho da bobina e volume de amostra.

Analisando a figura 2, percebemos que as condições ótimas dos parâmetros físicos do sistema (volume de amostra injetado e o comprimento da bobina reacional) seriam obtidas quando se injeta um volume de 734μL de amostra e utiliza-se uma bobina de 57cm de comprimento.

Efetuada a otimização das variáveis físicas e químicas do sistema FIA, determinou-se a região linear no qual a absorbância se relaciona com a concentração de MTC, mostrados os sinais transientes para uma curva e repetibilidade com o máximo de absorbância em 565 nm; podendo ser verificada através da curva analítica colocando em gráfico os valores de A_{565nm} obtidos versus a concentração de MTC, obtendo o gráfico da figura 3. Obteve-se uma região de relação linear entre a absorbância do produto colorido com a concentração de MTC quando esta assume valores entre 0,25ppm ($7,06 \times 10^{-7}$ mol L⁻¹) e 7ppm ($1,98 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹)

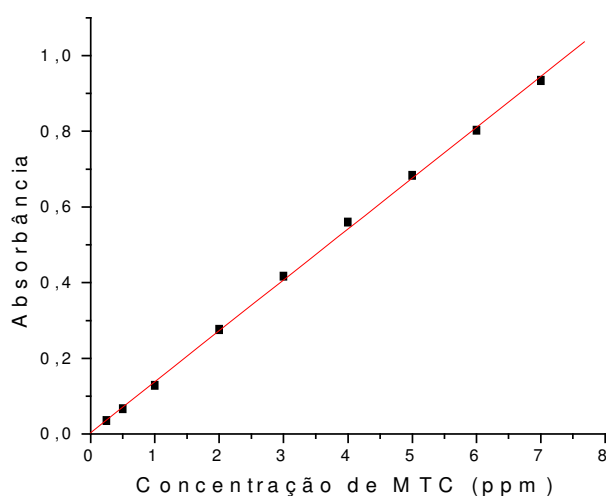


Figura 3 Curva analítica. Concentrações das soluções padrão de MTC: de $7,06 \times 10^{-7}$ mol.L⁻¹ a $1,98 \times 10^{-5}$ mol.L⁻¹.

Os valores de absorbância medidos em 565 nm para a faixa de concentração de MTC foram ajustados pela equação de uma reta: $A_{565nm} = 0.00393 (\pm 0.00603) + 0.13448$

$(\pm 0.00153) \times C$, onde C é a concentração de MTC ppm. O coeficiente de correlação foi 0.99955, indicando uma ótima linearidade do sistema descrito.

Determinou-se as condições ótimas dos parâmetros físicos e químicos do sistema FIA para a determinação de MTC em preparações farmacêuticas, obtendo-se os melhores resultados quando se utiliza p-DACA 0,068(m/v) em HCl 2%(m/v) em meio de SDS $6,8 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, uma bobina de 57cm, injetando um volume de amostra de 733.88 μL e mantendo a velocidade de rotação da a 20 rpm. Utilizando-se das condições otimizadas, obteve-se uma excelente linearidade do sistema, corroborado com uma curva analítica de ótimo coeficiente de correlação (0.99955) e grande repetibilidade.

O presente estudo confirma a grande potencialidade do uso do sistema de análise de injeção em fluxo com detecção espectrofotométrica para análises de rotina em preparações farmacêuticas contendo MTC como princípio ativo. Assim, o método já com os parâmetros químicos e físicos otimizadas, mostra-se indubitavelmente promissor na análise de MTC em preparações farmacêuticas, o qual deverá ser corroborado com a análise de amostras comerciais e tendo seus resultados comparados com os métodos oficiais descritos na Farmacopéia Brasileira e na British Pharmacopoeia.

1 Disponível em <http://www.gerbras.com.br/produtos/metoclopramida.asp>

Acesso em 03 outubro de 2006.

2. Disponível em < http://www.furp.sp.gov.br/novo_site/index.asp>.

Acesso em 3 de outubro 2006.

3. RUZICKA J, HANSEN EH.; **Flow Injection Analysis**; John Wiley & Sons, New York, 1988.

4.ROCHA, F.B; MARTELLI, P.B., REIS, B.F. **Quím. Nova**, v.23, 119, 2000.

5. BARROS, B, N.; SCARMÍNIO, I. S.;BRUNS, R. E. Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria, Campinas: Editora da Unicamp, 2001, 401p.

6. MOUSSA, B. A. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.23, 1045, 2000.

7. ROCHA, F. R. P.; TEIXEIRA, L. S. G., **Quim. Nova**, v. 27, 807, 2004.