

# OTIMIZAÇÃO DE METODOLOGIA QUANTITATIVA PARA DETERMINAÇÃO DE FÁRMACOS ANTI-HELMÍNTICOS. ESPECTROFOTOMETRIA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA

BERGOLD, A. M.; SALVADORETTI, C. \*.

Departamento de Produção de Matéria-Prima, Faculdade de Farmácia, UFRGS,

\* bolsista CNPq

**RESUMO:** Foi estudado método utilizando a espectrofotometria na região do ultravioleta para a determinação do albendazol nos meios ácido, alcalino e metanólico. A faixa linear das curvas de calibração é, respectivamente, entre 2,0 e 9,0 µg/ml, 2,5 e 12 µg/ml e 3,0 e 22 µg/ml. Os resultados dos doseamentos espectrofotométricos em meio ácido e alcalino são equivalentes aos obtidos por volumetria em meio não-aquoso com ácido perclórico.

**UNITERMOS:** Albendazol; doseamento; espectrofotometria no ultravioleta

**ABSTRACT:** *QUANTITATIVE METHOD OPTIMIZATION FOR THE ASSAY OF ANTIHELMINTHIC DRUGS. ULTRAVIOLET SPECTROPHOTOMETRY.* Albendazole determination in acidic, basic and methanol solutions by UV spectrophotometry was studied. Linear calibration range was, respectively, 2,0 to 9,0 µg/ml; 2,5 to 12 µg/ml and 3,0 to 22 µg/ml. The results of the spectrophotometric assay in acidic and basic solutions are equivalent with that obtained in non-aqueous titration with perchloric acid.

**KEYWORDS:** Albendazole; Assay, UV spectrophotometry

## INTRODUÇÃO

O albendazol, anti-helmíntico benzimidazólico, apesar de haver sido incluído desde 1990 na lista de fármacos considerados essenciais pela Organização Mundial da Saúde (HOWARD & LAING, 1991), está inscrito apenas na *Farmacopeia de los Estados Unidos Mexicanos* 5. ed. Neste trabalho está sendo proposto método para sua determinação quantitativa por espectrofotometria na região do ultravioleta, em meios ácido, alcalino e neutro.

## OBJETIVOS

- Determinação quantitativa de albendazol por espectrofotometria na região do UV, em meio alcalino, ácido e neutro; - Construção da curva de Ringbom, determinando se a faixa de concentração na qual a substância obedece a Lei de Lambert-Beer; - Comparação estatística entre os resultados para determinar quais são equivalentes.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### 1. CURVAS DE RINGBOM

**1.1. Preparação da solução padrão em meio alcalino:** Pesaram-se exatamente 50,0 mg de albendazol dessecado os quais foram transferidos para balão volumétrico de 50 mL. Foram adicionados 15 mL de ácido clorídrico a 2% v/v em metanol, para dissolução, completando-se o volume com água destilada. Transferiu-se alíquota

de 25,0 mL para balão volumétrico de 250 mL, completando-se o volume com ácido clorídrico 0,1 M. Desta solução contendo 100 µg/mL de albendazol foram medidos com bureta volumes de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e assim sucessivamente até 12,5 mL e transferidos para balões volumétricos de 50 mL, completando-se o volume com hidróxido de sódio 0,1 M. Foram obtidas, assim, soluções com concentrações variando entre 1,0 e 25,0 µg/mL de albendazol. As leituras de absorvância dessas soluções foram efetuadas contra branco de NaOH 0,1 M, a 308 nm, em espectrofotômetro SHIMADZU, modo UV-2201.

**1.2. Preparação da solução padrão em meio ácido:** Pesaram-se exatamente 50,0 mg de albendazol dessecado, os quais foram transferidos para balão volumétrico de 100 mL. Foram adicionados 25,0 mL de ácido clorídrico a 2 % v/v em metanol, para a dissolução, completando-se o volume com água destilada. Transferiu-se alíquota de 25,0 mL para balão volumétrico de 250 mL, completando-se o volume com ácido clorídrico 0,1 M. Desta solução contendo 50 µg/mL, foram medidos, com bureta, volumes de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 e assim sucessivamente até 20,0 mL, e transferidos para balão volumétrico de 50 mL, completando-se o volume com ácido clorídrico 0,1 M. Foram obtidas, assim, soluções com concentrações variando entre 1,0 e 20,0 µg/mL de albendazol. As leituras de absorvâncias dessas soluções foram efetuadas contra branco de ácido

clorídrico 0,1 M a 230 nm, em espectrofotômetro.

**1.3. Preparação da solução padrão em meio metanólico:** Foram pesados exatamente 50 mg do padrão dessecado que foram transferidos para balão volumétrico de 100 mL, adicionando-se 25 mL de metanol e aquecendo levemente, para dissolução, completando-se o volume com o mesmo solvente. Transferiu-se alíquota de 50,0 mL para balão volumétrico de 250 mL, completando-se o volume com metanol. Desta solução contendo 100,0 µg/mL, foram medidos, com bureta, volumes de 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 e assim sucessivamente até 13,0 mL e transferidos para balão volumétrico de 50,0 mL, completando-se o volume com metanol. Foram obtidas, assim, soluções com concentração entre 1,0 e 26,0 µg/mL de albendazol. As leituras de absorvâncias dessas soluções foram efetuadas contra branco de metanol a 295 nm, em espectrofotômetro.

## 2. CONSTRUÇÃO DAS CURVAS-PADRÃO

Foram construídas utilizando padrão de trabalho fornecido pelo laboratório Smithkline/Beecham.

**2.1. Em ácido clorídrico 0,1 M:** Pesaram-se 50,0 mg do padrão dessecado e transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL, prosseguiu-se as diluições como na construção das curvas de Ringbom para obtenção de soluções cuja concentração varia entre 2,0 e 9,0 µg/mL. As leituras de absorvância dessas soluções foram efetuadas contra branco de ácido clorídrico 0,1 M a 230 nm.

**2.2. Em hidróxido de sódio 0,1 M:** Pesaram-se 50,0 mg do padrão, dessecado e transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL, prosseguiu-se as diluições como na construção das curvas de Ringbom para obtenção de soluções cujas concentrações variam entre 2,5 e 12,0 µg/mL. As leituras de absorvâncias dessas soluções foram efetuadas contra branco de hidróxido de sódio 0,1 M a 308 nm.

**2.3. Em metanol:** Pesaram-se 50,0 mg do padrão dessecado e transferiu-se para balão volumétrico de 100,0 mL, prosseguiu-se as diluições como na construção das curvas de Ringbom para a obtenção de soluções cujas concentrações variam entre 3,0 e 22,0 µg/mL. As leituras de absorvância dessas soluções foram efetuadas contra branco de metanol a 295 nm.

## 3. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ALBENDAZOL NA MATÉRIA-PRIMA

Para o meio ácido, alcalino e metanólico foram usados, respectivamente, os mesmos procedimentos descritos na construção de curva padrão.

## RESULTADOS

Na tabela 1 são encontrados os valores dos resultados obtidos para o albendazol (matéria-prima) pelos métodos de doseamento utilizados:

**Tabela 1:** Resultados obtidos para a matéria-prima pelos métodos de doseamento utilizados:

	U.V. HCl	U.V. NaOH	U.V. MeOH
xi (%)	98,66	98,78	100,94
cv (%)	1,08	0,69	0,80
n	8	9	8

xi = média dos valores experimentais; cv = coeficiente de variação; n = número de determinações

Na tabela 2 encontram-se as equações das curvas de calibração obtidas em meio ácido, alcalino e metanólico.

**Tabela 2:** Equações das curvas obtidas pelos três métodos

Método	Equação da reta	Coefficiente de correlação (r)
HCl	$y = 0,0729 + 0,0997 x$	0,9992
NaOH	$y = 0,002 + 0,0742 x$	0,9999
MeOH	$y = 0,051 + 0,0439 x$	0,9997

## DISCUSSÃO

A determinação quantitativa do albendazol por espectrofotometria na região do ultravioleta já foi referida por outros autores (DIBBERN, 1984; ISIKDAG *et al.*, 1989; MANDAL *et al.*, 1992; WU *et al.*, 1991), em condições diferentes, no entanto, das utilizadas neste trabalho.

Nesta pesquisa trabalhou-se em meio neutro (metanol), ácido (HCl aquoso) e alcalino (NaOH aquoso). Como o albendazol é pouco solúvel em ácido clorídrico aquoso, dissolveu-se o fármaco com pequena quantidade de ácido clorídrico metanólico, prosseguindo então com a solução aquosa. A solução metanólica ácida também serviu de base para a preparação da solução alcalina, uma vez que, ao tentar a dissolução do fármaco diretamente em solução alcalina, tanto metanólica quanto aquosa, os resultados foram mais baixos.

Em meio ácido, o albendazol apresenta dois máximos de absorção, um a 230 nm e outro a 292 nm. Apesar da literatura referir-se mais à banda a 292 nm, esta não apresenta pico definido. ISIKDAG *et al.* (1989) fizeram determinações nos dois comprimentos de onda obtendo resultados mais reprodutíveis a 230 nm. Por essas razões, o método espectrofotométrico no ultravioleta, em meio ácido, foi padronizado a 230 nm.

Em publicação anterior (BERGOLD & KOROLKOVAS, 1993), foram referidos os resultados obtidos na determinação do albendazol em meio não-aquoso utilizando ácido perclórico como titulante. Esta é a técnica adotada pela

*Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos* 5 ed. e também é a que está sendo indicada para a Farmacopéia Brasileira 4 ed., na qual o albendazol será incluído como fármaco.

A tabela 3 apresenta os resultados comparativos entre a volumetria em meio não-aquoso e a espectrofotometria na região do ultravioleta (em meios ácido, alcalino e metanólico).

**Tabela 3:** Comparação entre os resultados (RES) obtidos para a matéria-prima pelos métodos de doseamento utilizados e pela volumetria em meio não-aquoso (VNA)

RES	VNA	U.V. HCl	U.V. NaOH	U.V. MeOH
xi (%)	98,92	98,66	98,78	100,94
cv (%)	0,26	1,08	0,69	0,80
n	8	8	8	8

xi = média dos valores experimentais; cv = coeficiente de variação; n = número de determinações

Através da análise de variância (ANOVA) (BERQUÓ *et al.*, 1981; MILLER & MILLER, 1988), foram comparados os teores médios obtidos pelas diversas técnicas. A ANOVA testa se a diferença entre resultados é significativa ou se pode ser atribuída ao acaso. Através da mesma se pode verificar diferença significativa para  $p=0,05$ . Todavia, pela ANOVA se pode saber apenas que a diferença é significativa como um todo, mas não entre quais médias, especificamente, existe diferença significativa. Para verificar isto foi adotado o teste de Tukey (SNEDECOR, 1962), pelo qual se determina um valor D que representa o intervalo de confiança entre as médias.

A tabela 4 apresenta a análise de variância.

**Tabela 4:** Análise de variância (ANOVA)

Fontes de variação	G.L.	SQ	F	F <sub>calc</sub>
Entre grupos	3	28,18	9,39	16,2
Dentro dos grupos	28	16,28	0,58	
Total	31	44,46		

$F_{3,28;0,05} \approx 3,63$  Significativo

O valor D, para ser utilizado na comparação das médias através do teste de Tukey, foi calculado por:

$$D = Qs_y$$

Onde Q é um valor tabelado,

$$s_y = \frac{\sqrt{0,58}}{4}$$

Onde 0,58 corresponde a variância dentro dos grupos e 4 corresponde ao número de técnicas comparadas entre si. Destas equações resultou  $D = 0,37$ .

Na tabela 5 encontram-se as diferenças

experimentais entre as diversas técnicas.

**Tabela 5:** Diferenças experimentais ( $L(X_i - x_i)$ ) a serem com aradas com D

Técnica	Xi	HCl	NaOH	Potenc.
Metanol	100,94	2,28	2,16	2,03
Potenc.	98,91	0,25*	0,13	-
NaOH	98,78	0,12*	-	-
HCl	98,66	-	-	-

\* Valores não significativos

## CONCLUSÕES

1. Através das curvas de Ringbom conclui-se que o albendazol obedece a Lei de Lambert-Beer:

- em meio ácido entre 2,0 e 9,0  $\mu\text{g/mL}$
- em meio alcalino entre 2,5 e 12  $\mu\text{g/mL}$
- em meio neutro entre 3,0 e 22  $\mu\text{g/mL}$

2. Os resultados obtidos pelos métodos espectrofotométricos na região do ultravioleta em meio ácido e em meio alcalino são equivalentes ao método oficial (volumetria em meio não-aquoso com  $\text{HClO}_4$  com detecção potenciométrica do ponto final) uma vez que as diferenças de teor encontradas através dos mesmos são inferiores ao valor D (Teste de Tukey). Este valor representa o intervalo de confiança entre as médias.

3. O resultado obtido pelo método espectrofotométrico na região do ultravioleta em meio metanólico não é equivalente ao método oficial.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGOLD, A. M.; KOROLKOVAS, A. Doseamento do albendazol como matéria-prima e em comprimidos em meio não-aquoso com ácido perclórico. *Rev. Farm. Bioquim.* São Paulo. Vol. 29, no. 1, p. 31-34, 1993.
- BERQUÓ, E. S.; SOUZA, J. M. P.; GOTLIEB, S. L. D. *Bioestatística*. São Paulo: EPU, 1981. p. 263.
- DIBBERN, H. W. (ed.) *UV and IR Spectra of some Important Drugs*. Aulendorf: Cantor, 1984. no. 212, no. 221.
- MÉXICO, SECRETARIA DE SALUD. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. 5 ed., México, 1990. Suplemento 1. p. 1865.
- HOWARD, N. J.; LAING, A. O. Changes in the World Health Organization Essential Drug List. *Lancet*, v. 38, p. 743-5, 1991.
- ISIKDAG, I.; UÇUCU, U.; BADAQBAS, K. Qualitative and quantitative analyses of the ingredients of some turkish commercial veterinary anthelmintic drugs. *Doga: Turk. Vet. Hayvancilik Derg.*, Ankara, v. 13, p. 311-8, 1989.
- MANDAL, S. C.; BHATTACHARYA, M.; MAITY, A. K.; GUPTA, B. K.; GHOSAL, S. K. Determination of albendazole in tablet formulations by UV spectrophotometric method. *Indian Drugs*, V. 29, p. 323-4, 1992. Apud: *Chem. Abstr.*, v. 117, abstr. n. 33819 m, 1992.
- MILLER, J. C.; MILLER, J. N. - *Statistics for Analytical Chemistry*. 2 ed., Chichester: Ellis Horwood, 1988. 277 p.
- SNEDECOR, G. W. *Statistical methods, applied to experiments in agriculture and biology*. 5 ed., Iowa: Iowa State University, 1962. p. 251-254.

**AGRADECIMENTOS**

Ao laboratório Smithkline/Beecham pelo fornecimento da matéria-prima e do padrão. À PROPESP e ao CNPq pelo financiamento da pesquisa.

**Endereço para correspondência:**

Prof.<sup>a</sup> Dr. Ana Maria Bergold  
Faculdade de Farmácia da UFRGS  
Av. Ipiranga, 2752  
90610-000 Porto Alegre RS