

DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE SULFAMETOXAZOL (SMZ) e TRIMETOPRIMA (TMP) EM PREPARAÇÕES FARMACÊUTICAS, UTILIZANDO ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA (UV)

RENATA L. SOUTO¹; ELFRIDES E. S. SHAPOVAL²; GERSON A. PIANETTI³

1. Farmacêutica - Presidente do Conselho Regional de Farmácia de Minas Gerais

2. Farmacêutica - Professor Titular Doutor - Faculdade de Farmácia da UFRGS

3. Farmacêutico - Professor Adjunto Doutor - Faculdade de Farmácia da UFMG
Avenida Olegário Maciel 2.360 - CEP: 30180-112 - Belo Horizonte - MG

RESUMO

A análise quantitativa de Sulfametoxazol (SMZ) e Trimetoprima (TMP) em preparações farmacêuticas requer, quase sempre, a separação destas duas substâncias ativas.

Um método espectrofotométrico para o doseamento de cada substância sem necessidade de prévia separação, foi avaliado e aplicado com resultados satisfatórios, em produtos comercializados no país.

INTRODUÇÃO

A avaliação quantitativa do Sulfametoxazol + Trimetoprima (SMZ+TMP) em associações, requer "a priori", separação das substâncias ativas por extrações sucessivas em solventes orgânicos ou em soluções adequadas^(1,2,3) levando, certamente, a prováveis causas de erro. A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é atualmente a metodologia indicada pelas farmacopéias americana⁽⁴⁾ e mexicana⁽⁵⁾, metodologias estas, inacessíveis a laboratórios de pequeno e médio portes, devido ao elevado custo do equipamento e periféricos.

A determinação destas duas substâncias ativas pode ser também realizada por espectrofotometria no visível através da reação de Bratton & Marshal⁽⁶⁾ desenvolvendo a coloração do meio pela diazotização e copulação do sal de diazônio (SMZ) e por extração clorofórmica da TMP com leitura a 271 nm. Esta metodologia exige duas extrações com solvente orgânico o que pode acarretar no comprometimento da dosagem final.

A determinação simultânea dessas substâncias no UV pode ser realizada em solução tampão de pH 7,2 já que ambas exibem um ponto isoabsortivo quando preparadas à mesma concentração. O ponto isoabsortivo é definido como o comprimento de onda, no qual duas substâncias diferentes possuem idênticos valores de absorvância⁽⁷⁾. O valor zero de absorvância no ponto isoabsortivo é verificado quando a solução de uma das substâncias é medida contra a solução de outra, à mesma concentração. A proporção de absorvância (Qo) da mistura binária é determinada a dois diferentes comprimentos de onda, um dos quais é o ponto isoabsortivo e o outro, o comprimento de onda no qual uma das substâncias absorve a energia radiante mais fortemente.

MATERIAL E MÉTODO

Foram analisados 06 lotes de comprimidos contendo 400 mg de SMZ e 80 mg de TMP por unidade, codificados como L₁ a L₆. Destes, 04 lotes foram adquiridos em farmácias de Belo Horizonte e dois outros, fornecidos pelo Ministério da Saúde.

As Substâncias Químicas de Referência (SQR) de SMZ (99,6%) e de TMP (99,5%) foram cedidas pelo Laboratório ROCHE.

As soluções padrão e de análise foram preparadas em solução tampão pH 7,2 a partir de fosfato monobásico de potássio (Merck) 0,1M-hidróxido de sódio (Merck) 0,1M-água destilada, na proporção de 50:35:15.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro SHIMADZU UV/VIS 160A com cubetas de quartzo de 1 cm e registradas em impressora térmica.

A absorvância das preparações de referência de SMZ e TMP em solução tampão e concentração de 10 µg.mL⁻¹ foi registrada separadamente, em espectro usando a faixa de varredura compreendida entre 220 e 400 nm. A adição de 20% (v/v) de metanol facilitou a dissolução da TMP na solução tampão.

Por justaposição dos espectros obtidos, determinou-se experimentalmente o ponto isoabsortivo dos dois compostos usando como branco a solução tampão pH 7,2. As amostras dos 06 lotes de comprimidos foram preparadas à concentração de 10 µg.mL⁻¹ de SMZ e 2 µg.mL⁻¹ de TMP em solução tampão pH 7,2, adicionando-se 20% (v/v) de metanol e agitando-se mecanicamente por 20 minutos.

A absorvância destas amostras foi registrada separadamente nos dois comprimentos de onda previamente determinados, ou seja, no ponto isoabsortivo e no valor máximo de absor-

ção correspondente à preparação de referência de SMZ, que apresentou maior absorção de energia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As preparações referência de SMZ e TMP à concentração de 10 µg.mL⁻¹ em tampão fosfato pH 7,2 apresentaram, respectivamente, λ max a 256,8 e 279,0 nm. O ponto isoabsortivo a 241,1 nm foi determinado pela superposição dos espectros. Os valores de absorvância obtidos para o SMZ e TMP, nas preparações referência e de análise, quando observados a 256,8 e 241,1 nm, estão na Tabela I e representam a média aritmética de 06 determinações. Na mesma Tabela são relacionados os valores de proporção de absorvância (Qo). A Figura mostra o ponto isoabsortivo da mistura binária quando da justaposição dos espectros obtidos separadamente.

Calculou-se o teor de cada um dos componentes nas amostras de comprimidos, através da equação:

$$C_x = \frac{Q_o - Q_{o_y}}{Q_{o_x} - Q_{o_y}} \cdot \frac{A_i}{a_i} \quad \text{Eq.1}$$

Onde C_x representa a concentração do composto "x" em g.L⁻¹, em cada preparação de análise. Qo é a proporção de absorvância da mistura binária em cada preparação de análise e nas preparações de referência de SMZ (x) e de TMP (y). A absorvância da mistura binária em cada preparação de análise no ponto isoabsortivo é dada por "Ai" enquanto que "ai" representa a absorvância das preparações de referência no ponto isoabsortivo, sendo:

$$a_i = \frac{A_i}{b \times c} \quad \text{Eq. 2}$$

no qual "Ai" representa a absorvância, "b" é o caminho óptico da célula em cm e "c" a concentração das preparações referência em g.L⁻¹. Equação análoga foi aplicada ao cálculo do outro componente da fórmula, a cada preparação de análise.

A teoria do método da proporção de absorvância em análises foi apresentada por PERNAROWSKY et al. em 1961. Tal teoria indica uma relação uniforme entre os valores da proporção de absorvância de uma mistura binária, calculado a partir da leitura de absorvância a dois comprimentos de onda. O valor de proporção de absorvância (Qo) de uma determinada solução é dado pela divisão da sua absorvância a diferentes comprimentos de onda.

A expressão Qox_{256,8/241,1} portanto, refere-se a valores de proporção de absorvância da preparação de referência do composto "x", quando o valor de absorvância desta solução a 256,8 nm é dividido pelo valor de absorvância da mesma solução a 241,1 nm.

Ao se substituir os valores numéricos na equação apropriada, encontram-se os equivalentes de SMZ e TMP na preparação de análise dos 06 lotes de comprimidos, cujos valores representativos estão na Tabela II.

CONCLUSÕES

O método aplicado mostrou-se eficaz e reprodutível sendo de interesse como método farmacopêico alternativo para laboratórios de pequeno e médio portes, principalmente em análises rotineiras de lotes contendo associações.

Os medicamentos submetidos à análise apresentaram concentrações de **SMZ** e de **TMP** dentro da variação de 10%, exigência da maioria dos códigos farmacêuticos.

REFERÊNCIAS

- 1 BRITISH Pharmacopoeia 1988. London: HMSO, 1988.
- 2 PHARMACOPEE Européenne 2^a ed. France. Maisonneuve, 1983.
- 3 THE UNITED States Pharmacopeia; the national formulary XXII. Rockville. United

- States Pharmacopeial Convention, 1990.
- 4 THE UNITED States Pharmacopeia; the national formulary. 23. Rockville. United States Pharmacopeial Convention, 1995.
- 5 FARMACOPEIA de los estados unidos mexicanos. 5. Ed. México. 1988.
- 6 C. A BRATTON & E. K. MARSHALL. A new coupling component for sulfanilamide determination. *Journal of Biological Chemistry*. Baltimore, 128:537-50, 1939.
- 7 M. PERNAROWSKY; A. M. KNEVEL & J.E. CHRISTIAN. Application of absorbancy ratios to the analysis of pharmaceuticals II; practical aspects of the analysis of binary mixtures. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Washington, 50(11):946-53, 1961.

TABELA I - Valores de absorvância e respectivas proporções (Qo) para soluções referência de **SMZ** (x) e **TMP** (y) e para as amostras comerciais contendo a mistura binária

PREPARAÇÕES	λ 256,8 nm	λ 241,1 nm	Qo
SMZ (x) - SQR	0,658±0,002	0,471±0,001	1,3970
TMP (y) - SQR	0,128±0,002	0,471±0,001	0,2718
Lote 1	0,685±0,012	0,571±0,008	1,1996
Lote 2	0,707±0,008	0,590±0,006	1,1983
Lote 3	0,678±0,014	0,565±0,010	1,2000
Lote 4	0,700±0,007	0,583±0,006	1,2007
Lote 5	0,689±0,009	0,574±0,007	1,2021
Lote 6	0,661±0,011	0,550±0,010	1,2818

TABELA II - Resultados Quantitativos obtidos pelo método de análise espectrofotométrico em misturas binárias contendo **SMZ + TMP**

LOTES	SMZ		TMP	
	400 mg/comprimido	% V. R.	80 mg/comprimido	% V. R.
LOTE 1	399,8	99,96	85,1	106,34
LOTE 2	412,6	103,14	88,5	110,60
LOTE 3	395,8	98,96	75,5	94,35
LOTE 4	408,7	102,13	86,4	107,97
LOTE 5	403,0	100,76	84,4	105,50
LOTE 6	386,1	96,52	81,0	101,29

FIGURA - Determinação do ponto isoabsortivo do **SMZ** e **TMP** (A), a partir das preparações químicas de referência do **SMZ** (B) e da **TMP** (C), na concentração de 10 mg.mL⁻¹, em tampão pH 7,2.
Velocidade de varredura: 60 nm.min⁻¹
Velocidade de registro: 2 cm.min⁻¹

