

SEPARAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS DIURÉTICOS

Dênia Mendes de Sousa VALLADÃO*
José ZUANON NETTO*
Massao IONASHIRO*

- RESUMO: Os autores estudaram o comportamento cromatográfico de medicamentos diuréticos empregando dois adsorventes, nove fases móveis e seis reagentes de detecção. Nestas condições foi possível separar e identificar furosemida, espironolactona, cloridrato de amilorida e hidroclorotiazida.
- PALAVRAS-CHAVE: Cromatografia em camada delgada; separação e identificação de diuréticos.

Introdução

Diuréticos são fármacos que aumentam o fluxo urinário e que apresentam grande importância no controle de inúmeras enfermidades.

Atualmente estes fármacos apresentam-se associados a outros diuréticos com a finalidade de conservação de potássio. Essas associações utilizadas na formulação de preparações farmacêuticas apresentam, portanto, composições complexas, dificultando sua análise.^{1,5,16}

Baseado neste fato e nas características da cromatografia em camada delgada, tais como rapidez de execução, baixo custo, alta resolução, versatilidade⁷⁻⁸ e aplicabilidade à análise de substâncias inorgânicas e orgânicas,^{2,4,6,9-15,17,18} procurou-se testar sistemas cromatográficos e soluções reveladoras capazes de separar e identificar os fármacos em questão.

* Departamento de Química Analítica - Instituto de Química - UNESP - 14800-900 - Araraquara - SP - Brasil.

Material e método

1. Material

1.1 Comprimidos diuréticos obtidos no comércio

1.1.1 Furosemida-espironolactona

Furosemida	20 mg
Espironolactona	120 mg
Excipiente	380 mg

1.1.2 Furosemida-cloridrato de amilorida

Furosemida	40 mg
Cloridrato de amilorida	10 mg
Excipiente	210 mg

1.1.3 Hidroclorotiazida-espironolactona

Hidroclorotiazida	50 mg
Espironolactona	50 mg
Excipiente	170 mg

1.1.4 Hidroclorotiazida-cloridrato de amilorida

Hidroclorotiazida	50 mg
Cloridrato de amilorida	5 mg
Excipiente	195 mg

1.2 Padrões

Foram utilizados como padrões os fármacos furosemida, hidroclorotiazida, espironolactona e cloridrato de amilorida, fornecidos por indústrias farmacêuticas.

2. Método

2.1 Preparo das amostras

- Pulverização e homogeneização dos comprimidos.
- Um comprimido contendo os diuréticos associados foi tratado com cerca de 25 ml de metanol sob agitação durante 15 minutos. Seguiu-se, ainda, uma filtração.

2.2 Preparo de padrões

Todos os padrões foram preparados em metanol na concentração de 1% m/v.

2.3 Adsorventes e preparo das camadas

Os adsorventes utilizados foram a sílica-gel G e a celulose microcristalina.

As camadas foram preparadas em espalhador Desaga, sobre placas de vidro de 20 x 20 cm. Após terem sido preparadas, as camadas foram secas ao ar livre e então ativadas a 105°C-110°C por 30 minutos, no caso da sílica-gel G, e por 10 minutos, no caso da celulose microcristalina.

2.4 Fases móveis empregadas e tipo de desenvolvimento

As fases móveis utilizadas, sempre em desenvolvimento unidimensional ascendente simples, em câmara saturada, foram as seguintes:

- 1) n-butanol: água destilada (9:1)
- 2) etanol absoluto: amônia aquosa a 25% de água destilada (7:1:2)
- 3) etanol absoluto: amônia aquosa a 25% (4:1)
- 4) n-butanol
- 5) etanol absoluto: clorofórmio: n-heptano (1:1:1)
- 6) n-butanol: ácido acético glacial 100% m/m: água destilada (4:1:1)
- 7) n-propanol: água destilada (9:1)
- 8) n-propanol: amônia aquosa a 25% (9:1)
- 9) álcool amílico: amônia aquosa a 25% (9:1)

2.5 Agentes reveladores

Foram utilizados os seguintes agentes reveladores:

- Luz ultravioleta (onda curta e longa).

Tabela 1 - Valores Rf x 100 obtidos para diferentes fármacos estudados nas diferentes fases móveis utilizando como fase estacionária a sílica-gel G, desenvolvimento simples, percurso de 10 cm e revelação através da luz UV

Fase móvel	Amostra	Rf x 100	Revelador: luz UV
1	Furosemida	52	abs. luz
	Hidroclorotiazida	44	abs. luz
	Espironolactona	86	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	39	abs. luz
2	Furosemida	frente	abs. luz
	Hidroclorotiazida	ponto de partida	abs. luz
	Espironolactona	frente	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	ponto de partida	abs. luz
3	Furosemida	89(d)	abs. luz
	Hidroclorotiazida	52	abs. luz
	Espironolactona	98	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	49	abs. luz
4	Furosemida	50(c)	abs. luz
	Hidroclorotiazida	45	abs. luz
	Espironolactona	80(a)	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	ponto de partida	abs. luz
5	Furosemida	20	abs. luz
	Hidroclorotiazida	42	abs. luz
	Espironolactona	97	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	25	abs. luz
6	Furosemida	frente(d)	abs. luz
	Hidroclorotiazida	56(a)	abs. luz
	Espironolactona	frente	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	43	abs. luz
7	Furosemida	83	abs. luz
	Hidroclorotiazida	ponto de partida	abs. luz
	Espironolactona	frente(a, b)	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	ponto de partida	abs. luz
8	Furosemida	40	abs. luz
	Hidroclorotiazida	ponto de partida	abs. luz
	Espironolactona	87	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	ponto de partida	abs. luz

(a) mancha difusa; (b) mancha alongada; (c) mancha com parte frontal bem definida com cauda alongada e difusa; (d) mancha que se estende do ponto de aplicação até o Rf indicado.

• Solução etanólica de vanilina 3% (m/v) adicionada de 0,5 ml de ácido sulfúrico concentrado. Após nebulização com esta solução, aqueceu-se cerca de 20°C para que aparecessem as manchas.

• Solução glicose/ácido fosfórico preparada pela dissolução de 1 g de glicose numa mistura de 5 ml de ácido fosfórico 85% e 20 ml de água destilada e adicionado de 15 ml de etanol absoluto e de 15 ml de n-butanol. Após aplicação do revelador, as placas foram aquecidas a cerca de 115°C para que aparecessem as manchas.

• Solução púrpura de bromocresol 0,04% (m/v) em etanol 50%, ajustada a pH 10,0 com hidróxido de sódio.

• Cloreto férrico 5% (m/v) em água destilada.

• Reativo de Dragendorff iodado, preparado pela mistura de uma solução A (iodeto de potássio 6 g + 15 ml de água destilada) com uma solução B (nitrato de bismuto 0,26 g + ácido acético glacial 15 ml), completando o volume para 150 ml com ácido sulfúrico 10% v/v adicionado de 3 g de iodo, sob agitação por 30 minutos.

2.6 Aplicação das amostras e padrões

Foram utilizados capilares de vidro para aplicar cerca de 5 l das soluções padrões e amostras. As diferentes soluções foram aplicadas na linha de partida localizada a 1,5 cm da borda inferior da cromatoplaca e distanciadas 1,5 cm entre si.

Resultado e discussão

Nas Tabelas 1 e 2 estão apresentados os resultados obtidos com as camadas de sílica-gel G e celulose microcristalina, com as diferentes fases móveis.

Como podemos observar na Tabela 1, a fase móvel mais apropriada para separar todos os fármacos estudados na camada de sílica-gel G é a número 5. As demais fases móveis não separaram todos os fármacos de maneira adequada, pois muitas vezes se observam manchas alongadas e/ou difusas desde o ponto de partida até o centro de maior concentração.

Já com o emprego da camada de celulose microcristalina, verificou-se que a fase móvel número 6 era a que separava os fármacos estudados, como mostra a Tabela 2.

A Tabela 3 mostra os resultados obtidos na detecção dos fármacos com os diferentes reveladores empregados.

Pela Tabela 3, verificamos que o melhor método de revelação para os fármacos estudados é a luz UV, porque, além de ser rápido, não emprega reagentes, bastando apenas observar e delimitar as manchas.

Dos métodos químicos de detecção empregados, verificou-se que os reveladores vanilina e glicose/ácido fosfórico revelam todos os fármacos estudados, enquanto os demais revelam apenas alguns.

Tabela 2 - Valores Rf x 100 obtidos para diferentes fármacos estudados nas diferentes fases móveis utilizando como fase estacionária a celulose microcristalina, desenvolvimento simples, percurso de 10 cm e revelação através da luz UV

Fase móvel	Amostra	Rf x 100	Revelador: luz UV
1	Furosemida	frente(a)	abs. luz
	Hidroclorotiazida	ponto de partida	abs. luz
	Espironolactona	frente(a)	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	ponto de partida	abs. luz
5	Furosemida	99(a)	abs. luz
	Hidroclorotiazida	ponto de partida	abs. luz
	Espironolactona	99	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	ponto de partida	abs. luz
6	Furosemida	89	abs. luz
	Hidroclorotiazida	58	abs. luz
	Espironolactona	97	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	37	abs. luz
7	Furosemida	92(a)	abs. luz
	Hidroclorotiazida	77(a)	abs. luz
	Espironolactona	99(a)	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	ponto de partida	abs. luz
8	Furosemida	97(a)	abs. luz
	Hidroclorotiazida	75(a)	abs. luz
	Espironolactona	99(a)	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	ponto de partida	abs. luz
9	Furosemida	5(b)	abs. luz
	Hidroclorotiazida	ponto de partida	abs. luz
	Espironolactona	93	abs. luz
	Cloridrato de amilorida	ponto de partida	abs. luz

(a) mancha que se estende do ponto de aplicação até o Rf indicado; (b) mancha alongada.

Tabela 3 - Soluções reveladoras empregadas e cores obtidas com os fármacos estudados

Reveladores	Cores obtidas			
	Furosemida	Hidroclorotiazida	Espironolactona	Cloridrato de amilorida
Vanilina	verde	amarelo claro	róseo	amarelo
Púrpura de bromocresol	-	-	lilás claro	amarelo
Cloreto férrico	róseo	-	-	-
Cloreto férrico + relativo de Dragendorff	róseo	-	castanho	-
Púrpura de bromocresol + relativo de Dragendorff	verde	-	amarelo	róseo
Glicose/ácido fosfórico	Marrom claro	Marrom claro	amarelo	Marrom claro
Luz UV	Todos os fármacos estudados absorvem luz na região do UV			

Conclusão

Com o desenvolvimento cromatográfico ascendente simples foi possível separar e identificar os fármacos furosemida, hidroclorotiazida, espironolactona e cloridrato de amilorida. Verificou-se também que dependendo do(s) fármaco(s) em estudo, podem-se selecionar várias fases móveis e, também, optar-se por diferentes reveladores, o que faz com que possamos adequar o processo às disponibilidades do laboratório de trabalho.

Agradecimento

Ao CNPq, pelo apoio financeiro; à Hoechst do Brasil e Farmacêutica S.A., pela cessão da furosemida; à Merck Sharp & Dohme Química e Farmacêutica Ltda., pela cessão da hidroclorotiazida e do cloridrato de amilorida; à Furp (Fundação do Remédio Popular), pela cessão da hidroclorotiazida; à Biolat Indústrias Farmacêuticas S.A., pela cessão da espironolactona.

VALLADÃO, D. M. de S., ZUANON NETTO, J., IONASHIRO, M. Separation and identification of diuretic drugs. *Ecl. Quím.*, São Paulo, v. 19, p. 57-65, 1994.

■ **ABSTRACTS:** The authors have studied the chromatographic behavior of diuretic drugs using two adsorbents, nine mobile phases and six detection reagents. In this condition it was possible to separate and to identify furosemide, spironolactone, amiloride hydrochloride and hydrochlorothiazide.

■ **KEYWORDS:** Thin layer chromatography; separation and identification of diuretic drugs.

Referências bibliográficas

1. CRAIG, C. R., STYZEL, R. E. *Farmacologia moderna*. São Paulo: Roca, 1986.
2. HANAI, L. W. A. Cromatografia em papel na pesquisa de quinze cátions em produtos farmacêuticos. *Rev. Fac. Farm. Odontol.*, Araraquara, v. 5, n. 2, p. 259-86, 1971.
3. HANAI, L. W. A., LONGO, A., ZUANON NETTO, J. Separação do íon ferro pela cromatografia em camada delgada e sua determinação espectrofotométrica em fórmulas farmacêuticas. *Rev. Ciênc. Farm.*, n. 3, p. 11-6, 1981.
4. HANAI, L. W. A., ZUANON NETTO, J., LONGO, A. Separação e identificação do cátion Fe^{3+} em presença de Pb^{2+} , Ca^{2+} , Cu^{2+} e Zn^{2+} pela cromatografia em camada fina de sílica-gel HR-amido. *Rev. Fac. Farm. Odontol.*, v. 8, n. 1, p. 33-7, 1974.
5. KOROLKOVAS, A., BURCKHALTER, J. H. *Química farmacêutica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988.
6. LONGO, A. Pesquisa dos cátions do grupo do ácido clorídrico, sulfeto de hidrogênio e sulfeto de amônio, pela cromatografia em papel. *Rev. Fac. Farm. Odontol.*, v. 1, n. 1, p. 5-28, 1967.
7. _____. Identificação cromatográfica de substâncias ativas em formas farmacêuticas. I - Comprimidos de ácido acetil salicílico. *Rev. Ciênc. Farm.*, n. 2, p. 19-30, 1979.
8. LONGO, A., MANCINI, M. A. D. Identificação cromatográfica de substâncias ativas em formas farmacêuticas. II - Comprimidos de vitaminas do complexo B e drágeas anti-hemorragias. *Rev. Ciênc. Farm.*, n. 2, p. 31-45, 1979.
9. LONGO, A., ZUANON NETTO, J. Pesquisa dos ânions do grupo I do esquema de Treadwell, pela cromatografia em camada delgada e análise de toque. Parte I. *Rev. Fac. Farm. Odontol.*, v. 3, n. 2, p. 225-30, 1969.
10. _____. Pesquisa dos ânions do grupo II do esquema de Treadwell, pela cromatografia em camada delgada e análise de toque. Parte II. *Rev. Fac. Farm. Odontol.*, v. 4, n. 2, p. 335-41, 1970.
11. LONGO, A. et al. Cromatografia aplicada no campo qualitativo inorgânico. Parte II - Comportamento dos cátions constantes dos quadros normais de análise qualitativa através do método da cromatografia em papel e em camada delgada. *An. Farm. Quím.*, v. 20, n. 1/2, p. 230-42, 1980.
12. MANCINI, M. A. D., HANAI, L. W. Identificação cromatográfica de glicosídeos cardiotônicos em comprimidos e injetáveis. *Rev. Fac. Farm.*, n. 11, p. 171-80, 1989.
13. _____. Identificação de óleos essenciais ou seus componentes isolados em produtos farmacêuticos. II - Preparações injetáveis. *Rev. Ciênc. Farm.*, n. 14, p. 169-78, 1992.

14. MANCINI, M. A. D., LONGO, A., HANAI, L. W. Identificação cromatográfica da reserpina em comprimidos e em injetáveis. *Rev. Ciênc. Farm.*, n. 7, p. 133-43, 1985.
15. SHERMA, J. Thin layer and paper chromatography. *Anal. Chem.*, n. 60, p. 74-86, 1988.
16. ZANINI, A. C., OGAS, S. *Farmacologia aplicada*, 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1989.
17. ZUANON NETTO, J. Separação e identificação de cátions por cromatografia em camada delgada. *Ecl. Quím.*, v. 16, p. 9-13, 1991.
18. ZUANON NETTO, J., GRANER, C. A. F., IONASHIRO, M. Separação e identificação de ânions por cromatografia em camada delgada. *Ecl. Quím.*, v. 9, p. 45-9, 1984.

Recebido em 15.12.1992.
Aceito em 25.1.1994.