

IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE PARABENOS EM MATÉRIAS-PRIMAS FARMACÊUTICAS POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

OLIVEIRA, Maysa A.¹; LIMA, Eliana Martins²

¹Mestranda em Química - IQ / Faculdade de Farmácia/ UFG , maysa@posgrad.ufg.br

²Orientadora/Laboratório de Tecnologia Farmacêutica/ Faculdade de Farmácia / UFG, emlima@farmacia.ufg.br

Palavras-chave: Parabenos, Matérias-primas, CLAE.

1. INTRODUÇÃO

A contaminação microbiana de produtos farmacêuticos constitui um problema de saúde pública por representar um risco à saúde do paciente. Essa contaminação pode ocorrer durante o processo de fabricação ou durante o uso do produto farmacêutico (LACHMAN, 2001). As fontes de contaminação durante o processo de produção incluem água, matérias-primas, equipamentos, utensílios, os responsáveis pelo processo de produção e o ambiente de produção. O próprio paciente pode representar uma fonte de contaminação, inoculando microrganismos durante o uso do produto farmacêutico (GENNARO, 1999; LACHMAN, 2001; AULTON, 2002). Os conservantes antimicrobianos são utilizados principalmente em preparações farmacêuticas líquidas e semi-sólidas, como soluções parenterais de pequeno volume, preparações oftálmicas, suspensões, emulsões, xaropes e supositórios. Estas preparações por apresentarem quantidade apreciável de água constituem um excelente meio para o crescimento de microrganismos (ANSEL et al, 2000). Duas considerações são importantes no uso de conservantes antimicrobianos: 1) a adição de conservantes não deve substituir de maneira alguma as boas práticas de fabricação, mas sim aumentar as probabilidades de que o produto preserve suas características farmacêuticas aceitáveis até sua utilização e durante seu uso pelo consumidor (GENNARO, 1999); 2) o conservante deve ser uma parte integrante da formulação, escolhido para garantir proteção em um ambiente particular (AULTON, 2002). Os parabenos são conservantes com amplo espectro antimicrobiano contra fungos e bactérias e são largamente utilizados em preparações farmacêuticas, cosméticos e alimentos. O uso de parabenos em preparações farmacêuticas teve início em 1920 e desde então têm sido empregados em uma variedade de preparações, que incluem supositórios, xaropes, soluções e suspensões orais. Os parabenos mais comumente utilizados são metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno (Figura 1). Acredita-se que a ação antimicrobiana dos parabenos seja dada pela inibição do crescimento microbiano, tanto na fase germinativa quanto na fase vegetativa (SONI et al, 2005). A atividade antimicrobiana aumenta com o aumento da cadeia alquila, enquanto que a solubilidade em água desses compostos diminui (PRISTA et al, 1995). Os parabenos são obtidos através da reação de esterificação do ácido *para*-hidroxibenzóico com álcool em meio ácido. Assim, o metilparabeno é obtido pela reação do ácido *para*-hidroxibenzóico com

metanol em presença de ácido sulfúrico. Os parabenos são estáveis entre pH 4 e 8. Em meio muito ácido estes ésteres sofrem hidrólise formando ácido *para*-hidroxibenzóico, seu composto de degradação, e o álcool correspondente. O ácido *para*-hidroxibenzóico formado apresenta reduzida atividade antimicrobiana. Além da hidrólise ácida, os ésteres do ácido *para*-hidroxibenzóico sofrem hidrólise alcalina (SONI et al, 2005). Os parabenos são cristais ou pós cristalinos brancos pouco solúveis em água, são compostos moleculares, polares, neutros e ponto de ebulição em torno de 270°C. Não há legislação que regulamente o uso de parabenos em preparações farmacêuticas, sendo usualmente empregadas concentrações de 0,18% de metilparabeno e 0,02% de propilparabeno (PRISTA et al, 1995) ou combinações desses parabenos de 0,1 a 0,2% (ANSEL et al, 2000). A Farmacopéia Brasileira preconiza como metodologia analítica para a quantificação de parabenos em matérias-primas a titulação potenciométrica. Os objetivos deste trabalho são o desenvolvimento e a validação de um método por cromatografia líquida de alta eficiência capaz de identificar e quantificar simultaneamente metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno em matérias-primas farmacêuticas.

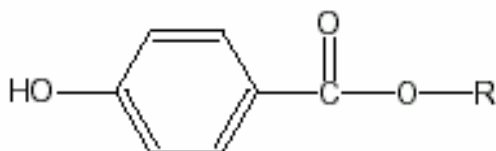


Figura. 1 Estrutura química de parabeno, onde R= metil (CH₃), etil (C₂H₅), propil (C₃H₇), butil (C₄H₈).

2. METODOLOGIA

2.1 – Equipamentos

Foram utilizados: 1) Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência modelo ProStar marca VARIAN, equipado com injetor automático modelo 410, detector UV-Vis modelo 310 e sistema de bombas ternário modelo 240; 2) Balança analítica marca GEHAKA modelo AG200.

2.2 – Coluna Cromatográfica

Foi utilizada coluna cromatográfica Microsorb VARIAN C8/L7 (250x4.6mm, 5 μ)

2.3 – Condições Cromatográficas

Fase móvel composta por uma mistura de metanol e solução de ácido acético a 1% em eluição gradiente, fluxo de 1 mL/min, volume de injeção 10 μL e detector UV em 254nm.

2.4. Reagentes e Substâncias Químicas

Foram utilizados metanol para cromatografia líquida JT BAKER, ácido acético glacial para análise Synth, ácido *para*-hidroxibenzóico FLUKA, metilparabeno VETEC e GERBRÁS, etilparabeno ALDRICH, propilparabeno VETEC e Natural Phama, butilparabeno FLUKA.

2.5 - Amostras e Padrões

Os padrões e amostras foram dissolvidos em metanol, em concentrações de 5 a 50 μg/mL.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante o desenvolvimento do método vários parâmetros foram testados para garantir uma análise rápida, com picos simétricos e resolução adequada entre eles. Dentre estes parâmetros foram testadas diferentes composições de fase móvel utilizando água, soluções ácidas, metanol, e acetonitrila; modos de eluição isocrático

e gradiente; e colunas cromatográficas C8 e C18. A otimização do método foi obtida utilizando fase móvel composta por solução de ácido acético a 1% e metanol, eluição gradiente e coluna cromatográfica C8. O método cromatográfico desenvolvido foi capaz de identificar e quantificar simultaneamente o metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno (Figura 2) além de demonstrar seletividade para o ácido *para*-hidroxibenzóico (Figura 3). O método foi validado nos parâmetros de linearidade, seletividade, precisão (repetitividade e precisão intermediária), exatidão e robustez, segundo Resolução-RE n° 899 da ANVISA. As curvas de calibração dos quatro parabenos foram lineares no intervalo de 5 a 50 µg/mL. A precisão de todos parabenos demonstrou coeficiente de variação (CV) ≤ a 2%. A exatidão para metilparabeno foi de 98,39 a 101,95% (CV=1,37%), etilparabeno de 98,06 a 101,98% (CV=1,50%), propilparabeno 99,39 a 103,09% (CV= 1,30%) e para butilparabeno de 100,10 a 102,12% (CV= 0,72%).

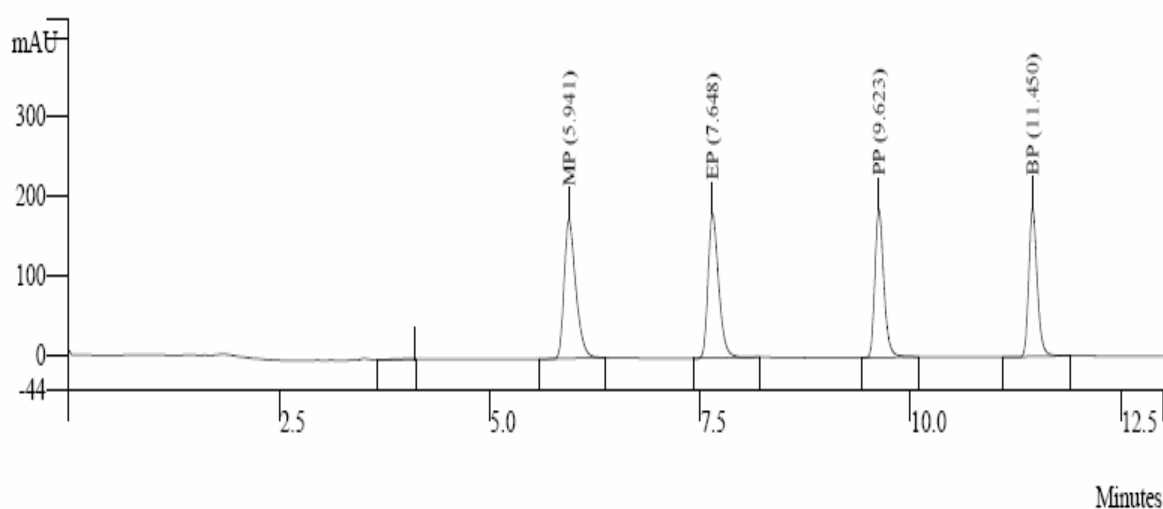


Figura. 2 Cromatograma de metilparabeno (MP), etilparabeno (EP), propilparabeno (PP) e butilparabeno (BP). A concentração de cada solução de parabeno é de 40 µg/mL.

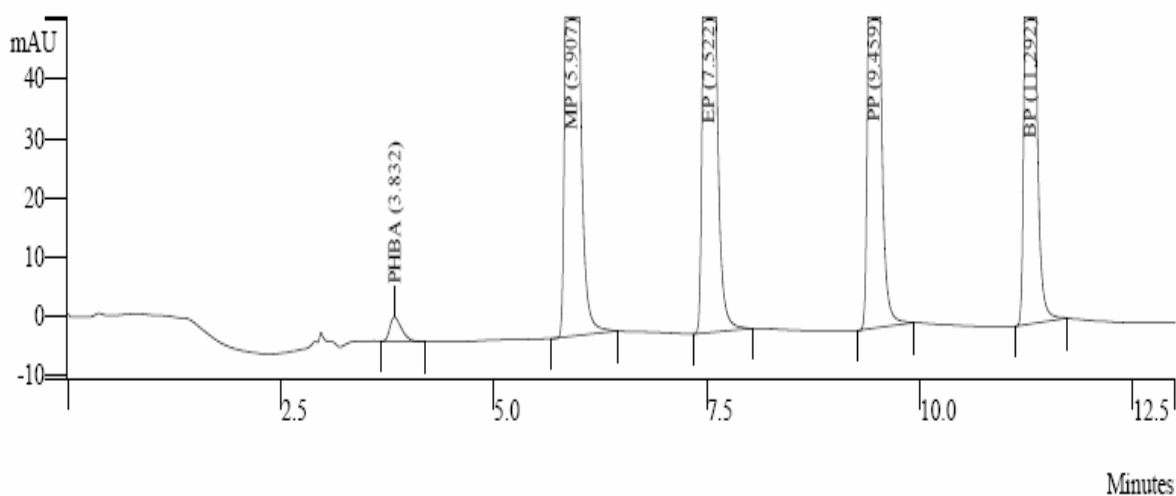


Figura. 3 Cromatograma do ácido p-hidroxibenzóico (PHBA), metilparabeno (MP), etilparabeno (EP), propilparabeno (PP) e butilparabeno (BP). A concentração de cada solução de parabeno é de 40 µg/mL e a concentração de PHBA é de 0,8 µg/mL.

A robustez do método foi avaliada analisando as amostras em diferente laboratório (Laboratório de Saúde Pública “Dr. Giovanni Cysneiros - LACEN-GO), utilizando: 1) Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência modelo ProStar VARIAN, equipado com injetor automático modelo 410, detector UV-Vis modelo 320 e sistema de bombas binário modelo 210; 2) Balança analítica METTLER TOLEDO modelo AG204; 3) Coluna cromatográfica LiChorspher MERCK C8 endcapped (250x4,0mm, 5 μ); 4) Metanol para cromatografia líquida Merck e 5) Ácido acético glacial para análise Merck. Os resultados dos ensaios realizados no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica e os realizados no LACEN-GO demonstraram $CV \leq 2\%$ para todas as amostras de parabenos. As soluções padrões e amostras e solução de ácido acético a 1% foram submetidas ao estudo de estabilidade por um período de 48 horas e demonstraram ser estáveis nesse intervalo.

4. CONCLUSÃO

O método cromatográfico desenvolvido demonstrou linearidade, precisão, exatidão e robustez para a identificação e quantificação simultânea de metilparabeno, etilparabeno, propilparabeno e butilparabeno em matérias-primas; sendo ainda seletivo para o ácido *para*-hidroxibenzóico, composto de degradação dos parabenos. A solução de ácido acético a 1% , as soluções de padrões e amostras são estáveis por um período de 48 horas. Em relação ao método preconizado pela Farmacopéia Brasileira para a quantificação de parabenos, este método é mais sensível e rápido por ser capaz de separar, identificar e quantificar simultaneamente quatro parabenos em apenas 13 minutos de análise. O método ainda pode ser considerado de simples execução, tornando-o o método de escolha na rotina do laboratório de controle de qualidade para a identificação e quantificação de parabenos em matérias-primas farmacêuticas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), Resolução-RE n° 899, de 29 de maio de 2003.

ANSEL, C. Howard; POPOVICH, Nicholas G.; ALLEN, Loyd V. Jr. Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos. 6 ed. São Paulo: Editorial Premier, 2000.

AULTON, M. E. Pharmaceuticals: The Science of Dosage Form Design. 2. ed. New York: Ed. Churchill Livingston, 2002.

Farmacopéia Brasileira, parte II, 3° Fascículo, 4 ed. Brasil: Atheneu Editora São Paulo, 2001.

GENNARO, A. R. Remington Farmácia. 19.Ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1999.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING, J.L. Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

SONI, M. G.; CARABIN, I.G.; BURDOCK, G.A. Safety Assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food and Chemical Toxicology*, n.43, p.985-1015, 2005.

PRISTA, Luís Nogueira; ALVES, Antônio Correia; MORGADO, Rui. Tecnologia Farmacêutica . 4 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2005.