



DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAR O TEOR DE ALCALÓIDES EM *Ephedra fragilis* desf.

MENEZES, Ariana de Paulaⁱ; **RABELO**, Daniella da Silva¹; **PAULA**, José Realino deⁱⁱ; **BARA**, Maria Teresa Freitasⁱⁱⁱ

Palavras-chave: efedrina, doseamento de alcalóides, validação de método analítico.

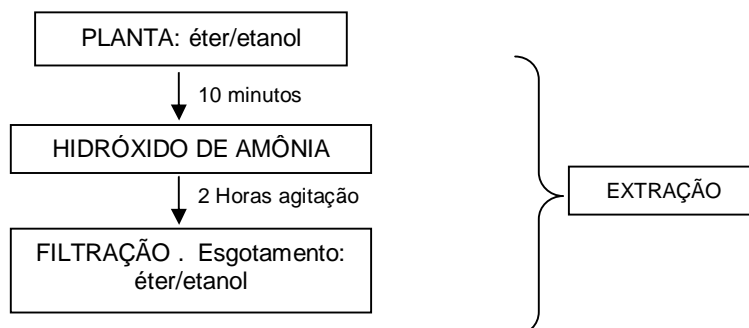
1. INTRODUÇÃO

A efedrina é o alcalóide majoritário das espécies do gênero *Ephedra*. Tem atividade simpaticomimética (e adrenérgica) e em doses elevadas, a efedrina pode provocar hipertensão, cefaléia, tontura, palpitações, vômito; e por estimular o sistema nervoso central, também pode provocar nervosismo e insônia (ALONSO, 1998). Frente às propriedades farmacológicas citadas, torna-se extremamente importante determinar o teor de princípios ativos nas matérias-primas à base de Efedra, bem como nos medicamentos manipulados com esta planta, vistos os perigosos efeitos colaterais que podem surgir com o seu uso, principalmente os relacionados a uma falência cardíaca. Os métodos volumétricos são largamente utilizados na avaliação quantitativa de alcalóides totais (Farmacopéia Brasileira, 4ª edição), portanto, propõe-se neste projeto, o desenvolvimento de um método titulométrico de doseamento de efedrina. O método deverá, em etapa posterior ser submetido à validação analítica que é de grande importância para a garantia da qualidade e constitui uma das exigências das Boas Práticas de Fabricação (BPF) vigentes (OLIVEIRA et al, 2006; RIBANI et al, 2004).

2. METODOLOGIA

2.1. Identificação físico-química da amostra: para confirmar a identidade da amostra, além das características organolépticas observadas como aspecto do pó, cor e odor; também foram realizadas análises qualitativas com reagentes de Dragendorff e Mayer para confirmar a presença de alcalóides na amostra; e a cromatografia de camada delgada (CCD), como método de identificação, descrita em WAGNER e BLADT (2001).

2.2. Desenvolvimento do método volumétrico de dosagem de efedrina por acidimetria direta e indireta:



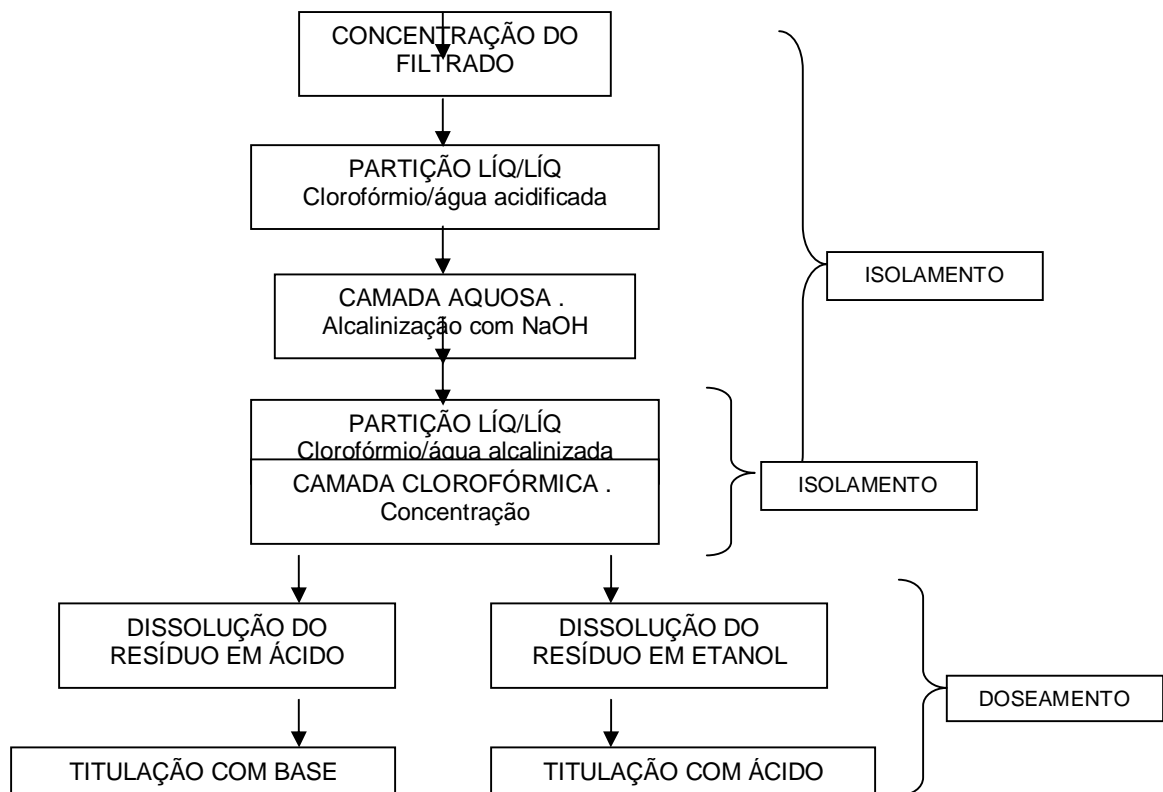


Figura 1. Esquema do desenvolvimento do método

2.3. Validação do método desenvolvido: dentre os métodos desenvolvidos, foi selecionado apenas um para ser submetido à validação. A precisão foi avaliada pelo critério repetibilidade, sendo este verificado a partir de seis determinações a 100% da concentração da amostra, sendo realizada uma determinação por dia com o mesmo analista e mesma instrumentação. A robustez do método proposto foi avaliada pela variação nos fornecedores dos reagentes e pela mudança na temperatura ambiente (25-32°C) dos diferentes dias em que foram realizados os testes. Para investigar a exatidão, o analito será doseado a partir de três concentrações 50, 100 e 150%, com três replicas cada. Linearidade será avaliada utilizando um padrão de trabalho (sulfato de efedrina) para a construção da curva analítica a partir de cinco concentrações (80, 90, 100, 110 e 120% da concentração teórica do teste). A seletividade será determinada pela adição na amostra de 1% de amido solúvel antes da extração.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Identificação físico-química da amostra: a amostra apresentou características condizentes às apresentadas pelo laudo fornecido pelo fabricante. Na análise qualitativa de alcalóides, a precipitação para os reagentes de Dragendorff e de Mayer confirma a presença de alcalóides na amostra. Na cromatografia de camada delgada (CCD) revelada com reagente de Dragendorff, a banda larga de coloração marrom e $R_f = 0,21$ (Fig. 2), trata-se, possivelmente, da banda correspondente à efedrina visto em WAGNER e BLADT, 2001 (banda marrom de $R_f \sim 0,2$). Na CCD revelada por Reagente de Ninhidrina, obteve-se uma banda vermelha-violeta de $R_f = 0,56$ (Fig. 2), que mais uma vez confirma a possível presença de efedrina, visto em WAGNER e BLADT, 2001 (banda vermelha-violeta de $R_f 0,4-0,5$), sendo esta variação devido à substituição da fase móvel.

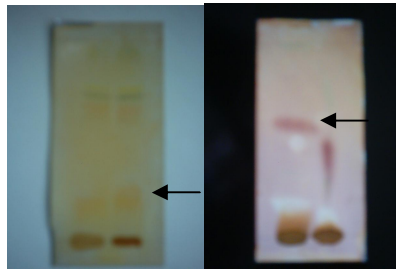


Figura 2. Cromatografia de Camada Delgada. (a) Revelada com reagente de Dragendorff. (b) Revelada com reagente de Ninhidrina. → Banda correspondente ao alcalóide.

3.2. Desenvolvimento do método volumétrico de dosagem de efedrina por acidimetria direta e indireta: Estes métodos foram baseados na monografia de *Atropa belladonna* (Farmacopéia Brasileira, 4ª edição). A efedrina encontrou na faixa de pH 10,0. 11,0 o meio ideal para se apresentar na forma não ionizada, favorecendo sua extração na fase clorofórmica e aumentando seu rendimento (Tabela 1). **Tabela 1. Resultados dos doseamentos e sua relação com o pH final**

pH	Método Direto	Média	Mét. Indireto	Média
7,5	0,073%	0,073%	0,131%	0,131%
9,0	0,298%	0,298%	0,314%	0,314%
10,0	0,422%	0,417%	0,415%	0,400%
10,0	0,400%		0,390%	
10,0	0,429%		0,397%	
11,0	0,421%	0,421%	0,373%	0,373%

3.3. Validação do método desenvolvido: a volumetria indireta foi o método de escolha utilizado na validação. Nos ensaios de repetibilidade foi encontrado um valor para o CV% de 9,7%, que pode ser considerado aceitável frente às diversas etapas anteriores ao doseamento (Fig. 1), o que é comum às análises de matérias-primas vegetais. Segundo a Anvisa (2003) este valor deve ser no máximo 5% e segundo VALENTINI (2004) o CV% pode variar até 15%.

Tabela 2. Teor de alcalóide obtido em doseamentos diferentes de uma mesma amostra (repetibilidade)

Nº doseamento	Concentração de alcalóide (%)	Média	DP	CV% (DPR)
1	0,632	0,5818	0,056542	9,718
2	0,501			
3	0,647			
4	0,533			
5	0,579			
6	0,599			

O método proposto possui robustez uma vez que, variando fornecedor de solventes e temperatura ambiente, os resultados sofreram variação não muito acentuada. Exatidão, linearidade e seletividade serão avaliadas subsequentemente.

4. CONCLUSÃO

Considerando as dificuldades pertinentes às análises de matérias-primas vegetais, o método foi preciso e robusto. Caso apresente exatidão, linearidade e sensibilidade, o método desenvolvido pode ser usado no controle de qualidade de matérias-primas a base de Efedra, porém de forma complementar aos outros métodos farmacognósticos empregados em monografias de matérias-primas vegetais (identificação, pureza e quantificação).

5. REFERÊNCIAS

- ALONSO, J. R. *Tratado de Fitomedicina: Bases Clínicas y Farmacológicas*. Buenos Aires, Argentina: ISIS Ediciones S.R.L. 1998
- OLIVEIRA, M. A. C.; ALBUQUERQUE, M. M.; XAVIER, H. S.; STRATTMANN, R. R.; JÚNIOR, S. G.; QUEIROZ, A. T. Desenvolvimento e Validação de Metodologia para

Quantificação de Alcalóides Totais como Berberina em Fitoterápico Contendo *Berberis vulgaris* L. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. v. 16, n. 3, 2006.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação Em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. *Química Nova*. v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

WAGNER, H.; BLADT, S. *Plant Drug Analysis: A Thin Layer Chromatography Atlas*. 2nd ed. Germany: Springer, 2001

VALENTINI, S. R.; SOMMER, W. A.; MATIOLI, G. Validação De Métodos Analíticos Na Quantificação De Comprimidos De Captopril . Comparação De Metodologias Para Um Programa De Garantia De Qualidade. *Acta Scientiarum Health Sciences*. v. 26, n. 2, p. 357-364, 2004.

ⁱ Iniciação científica. Faculdade de Farmácia . Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN), ariana.menezes@gmail.com

ⁱⁱ Professor do Lab. Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN/FF/UFG)

ⁱⁱⁱ Orientadora . Professora do Lab. Pesquisa em Produtos Naturais (LPPN/FF/UFG), mtbara@gmail.com