UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Curso de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamento
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**INFLUÊNCIA DE AGENTES ANTIOXIDANTES NA ESTABILIDADE DO
CLORIDRATO DE PROMETAZINA EM PREPARAÇÕES INJETÁVEIS.**

MARIA VITÓRIA LOPES BADRA

Dissertação para obtenção do grau de MESTRE.
Orientadora: Prof^a. Dr^a. Érika Rosa Maria Hackmann

São Paulo

- 1991 -

Aos meus pais, Miguel e Darci, e a minha
irmã, Raquel, pela orientação, apoio,
incentivo, e sobretudo pelo carinho.

À Prof^a. Dr^a. Érika Rosa Maria Hackmann,
pela compreensão, confiança, incentivo e
orientação, dispendados a mim, durante esse
tempo.

AGRADECIMENTOS

À amiga, Prof^a. PATRÍCIA MARIA BERARDO GONÇALVES MAIA CAMPOS que pela dedicação, confiança, apoio e profunda amizade que sempre me ofereceu.

Ao Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, por permitirem o uso de aparelhos e especialmente à funcionária IEDA MARIA RAZABONI PRADO, pela assistência.

Aos professores e funcionários do Laboratório de Farmacognosia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo.

Ao Centro de Computação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, pela confecção dos gráficos e cálculos estatísticos.

Ao Prof. Dr. GERALDO MAIA CAMPOS, pela colaboração na revisão gramatical.

Ao GEOFFREY BENTLEY JR., meu namorado, pelo carinho, paciência e compreensão com que acompanhou este trabalho.

À RHODIA - RHÔNE-POULENC pelo fornecimento de amostras.

À Prof^a. Dr^a. MARIA INÊS ROCHA MIRITELLO SANTORO pelas sugestões e estímulos.

Aos docentes e funcionários das Disciplinas de Farmacotécnica e Tecnologia Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, por me acompanharem durante toda a execução deste trabalho.

À SONIA APARECIDA FAZIO DE SOUZA E SILVA pelo eficiente trabalho datilográfico, apoio e incentivos.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	09
2.1. Generalidades.....	10
2.2. Degradação do cloridrato de prometazina.....	18
2.3. Estabilidade.....	28
2.4. Metodologia analítica para a determinação do cloridrato de prometazina.....	33
2.4.1. Métodos oficiais.....	33
2.4.2. Métodos Gerais.....	35
3. PROPOSIÇÃO.....	46
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	48
4.1. Material.....	49
4.1.1. Reagentes, soluções e solventes.....	49
4.1.2. Padrões.....	50
4.1.3. Amostras.....	50
4.1.4. Equipamentos.....	52

4.2. Métodos.....	53
4.2.1. Aplicação do método espectrofotométrico.....	53
4.2.1.1. Curva padrão de calibração.....	53
4.2.1.2. Verificação da interferência dos adjuvantes contidos nas amostras simuladas.....	55
4.2.1.3. Aplicação nas amostras simuladas.....	55
4.2.2. Estudo de estabilidade acelerado.....	56
4.2.3. Síntese do sulfóxido de prometazina.....	56
4.2.3.1. Caracterização do sulfóxido de prometazina.....	57
4.2.4. Cromatografia em camada delgada.....	57
5. RESULTADOS.....	60
5.1. Método espectrofotométrico.....	61
5.1.1. Curva padrão de calibração.....	61
5.1.2. Verificação da interferência dos adjuvantes contidos nas amostras simuladas.....	65
5.1.3. Aplicação do método espectrofotométrico nas amostras simuladas.....	66
5.2. Estudo de estabilidade acelerado.....	67
5.3. Caracterização do sulfóxido de prometazina.....	89
5.4. Cromatografia em camada delgada.....	91

6. DISCUSSÃO.....	101
7. CONCLUSÕES.....	118
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	121
9. RESUMO.....	140
10. SUMMARY.....	142

1. INTRODUÇÃO

Até o início do corrente século, os medicamentos eram produzidos em farmácias de manipulação, por meio de fórmulas magistrais e oficinais. Os problemas de estabilidade das preparações manipuladas não eram preocupantes, uma vez que o tempo de armazenagem era reduzido. No entanto, com o avanço da tecnologia farmacêutica e a explosão da industrialização, houve mudança significativa na produção de medicamentos. A introdução de novas formas farmacêuticas (injetáveis, comprimidos revestidos, cápsulas gelatinosas, etc.), o uso de maquinários, a produção em escala industrial, e um novo sistema de comercialização com transporte a longas distâncias e sob diferentes condições climáticas, exigiram o estabelecimento de estudos sobre estabilidade e determinação do prazo de validade para cada formulação farmacêutica.

A partir desse avanço na produção de medicamentos, a avaliação da estabilidade dos produtos comercializados ganhou papel importante no desenvolvimento das formulações farmacêuticas, objetivando elucidar a natureza, o transcurso e a cinética do processo de degradação, bem como verificar o tempo em que a fórmula farmacêutica mantém suas características de pureza, qualidade, potência e atividade farmacológica.

A estabilidade de um produto farmacêutico pode ser definida como a capacidade da preparação em manter suas características físicas, químicas, organolépticas, microbiológicas, terapêuticas e toxicológicas durante seu período de estocagem e uso, sob condições determinadas de fabricação e armazenagem (81).

Torna-se importante que o produtor demonstre que a preparação farmacêutica que produz, possui estabilidade suficiente para que possa ser estocada por um tempo razoável, sem sofrer mudança para uma forma inativa ou tóxica. Esse procedimento do produtor proporciona a segurança, para a classe médica e para o paciente de que o medicamento prescrito reagirá no local de ação em concentração suficiente para atingir o efeito terapêutico desejado.

A avaliação da estabilidade e a determinação do prazo de validade da forma farmacêutica final requerem em longos estudos para sua confirmação. Torna-se necessário verificar a influência de fatores tais como a interação entre substâncias ativas e adjuvantes, o uso de excipientes adequados, processo de fabricação, a forma farmacêutica, o material, o acondicionamento e as condições de armazenagem e uso.

O cloridrato de prometazina (I) corresponde quimicamente ao N, N, -trimetil-10H fenotiazina-10 etanamina, podendo ser encontrado sob o nome comercial de **Fenergan^R**. Constitui um potente anti-histamínico, pertencente ao grupo das fenotiazinas, utilizado no tratamento de distúrbios alérgicos, como anti-emético e como adjuvante à anestesia geral. (32, 45, 82).

I

Atualmente, encontram-se no mercado várias preparações que contém prometazina, sob a forma farmacêutica de comprimidos, drágeas, gotas, xarope, elixir, creme e solução injetável, podendo apresentar-se ainda em forma de base livre ou de sal (cloridrato ou teoclato), e também associado ou não a outros fármacos. (23, 54).

A prometazina, como base livre, é insolúvel em água e, devido a isso, é utilizada geralmente como sal, especialmente cloridrato, que se apresenta em forma de pó cristalino e branco, com alta hidrossolubilidade.

A decomposição de fármacos em preparações farmacêuticas pode ocorrer por meio de várias reações químicas como hidrólise, oxidação, racemização, descarboxilação e fotólise.

Como todos os derivados fenotiazínicos, o cloridrato de prometazina apresenta como característica uma alta sensibilidade à luz, ao calor e à oxidação, sofrendo decomposição térmica e fotoquímica, via mecanismo de radical livre. Essa instabilidade do fármaco frente a esses fatores dá origem a reações químicas que degradam o cloridrato de prometazina, comprometendo assim a qualidade e a eficácia das preparações que o contenham. Fatores como pH, íons metálicos (Fe^{+3} e Cu^{+3}), oxigênio, assim como a

propriedade de formar agregados micelares em soluções aquosas, interferem nas reações de degradação desse princípio ativo. O uso de antioxidantes, agentes quelantes, tampões, e o acondicionamento em recipientes hermeticamente fechados, de cor âmbar ou opacos, proporcionam melhor estabilidade às preparações farmacêuticas (14, 15).

A importância dos derivados fenotiazínicos para a terapia medicamentosa justifica os vários estudos sobre estabilidade e desenvolvimento de métodos analíticos.

Os processos oxidativos podem ser inibidos por meio de substâncias antioxidantes, também denominadas catalisadores negativos. Essas substâncias possuem potenciais de oxidação menores do que os do fármaco, degradando-se de maneira preferencial, oxidando-se, ou atuando como inibidores da cadeia. Um antioxidante, para ser considerado apropriado para uso farmacêutico, deve ser estável e eficaz em um amplo intervalo de pH, solúvel em sua forma oxidada, incolor, atóxico, não-volátil, não-irritante, eficaz em baixas concentrações, termoestável, e compatível com o material de acondicionamento e com os demais componentes da formulação (49).

Em meio aquoso, a decomposição oxidativa do cloridrato de prometazina é intensa, o que torna extremamente importante a avaliação da estabilidade dessa substância em preparações farmacêuticas líquidas, como, por exemplo, as injetáveis.

A estabilidade de uma preparação farmacêutica, nas condições ambientais, pode ser determinada pela aplicação de leis físicoquímicas aos dados analíticos obtidos em temperatura maiores (envelhecimento acelerado), e também utilizando-se avaliações estatísticas. Com esses procedimentos, é possível estimar a estabilidade em curtos períodos de tempo, e avaliar a cinética de decomposição do fármaco em questão, bem como determinar os prazos de validade (t_{90} a 25°C) das preparações farmacêuticas (63, 81).

Para conduzir os estudos sobre estabilidade de medicamentos, a escolha do método analítico para a determinação do fármaco é um fator preponderante. Tal método deve permitir a determinação do fármaco remanescente sem sofrer interferência dos produtos de degradação, dos excipientes e dos adjuvantes da formulação. Associados à metodologia analítica quantitativa, os métodos cromatográficos são considerados valiosos para a separação e identificação dos produtos de degradação (58, 73).

Assim, a intensa labilidade de derivados fenotiazínicos frente ao oxigênio sugeria o desenvolvimento de trabalhos, que objetivassem o estudo da estabilidade do cloridrato de prometazina em preparações injetáveis, em diferentes associações com antioxidantes.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. GENERALIDADES

Os primeiros compostos fenotiazínicos foram sintetizados na Europa, em fins do século XIX, mas somente no final da década de 30 é que se descobriu a prometazina, um derivado fenotiazínico com propriedades anti-histamínicas e acentuado efeito sedativo. Vários experimentos realizados com a prometazina, entre 1940 e 1950, mostraram que ela era ineficaz no tratamento da agitação em pacientes psiquiátricos. No entanto, constatou-se que determinava um prolongamento do sono induzido por barbitúricos. Por esse motivo, a prometazina passou a ser empregada como potencializador da anestesia geral (4).

Os fármacos pertencentes ao grupo das fenotiazinas possuem acentuada ação anti-histamínica, antimuscarínica e antiemética; podendo causar sedação e reações de fotossensibilização. Devido à

sua ação neuroléptica, determinados fenotiazínicos podem ser indicados como droga suplementar em medicação pré-anestésica, e no tratamento da esquizofrenia aguda e crônica, da ansiedade e de estados depressivos. Outra utilização terapêutica de fármacos fenotiazínicos é no controle de certas afecções de fundo alérgico. A ação antialérgica é apenas paliativa, porque mesmo diminuindo ou abolindo os principais efeitos da histamina no organismo, atuando como inibidores competitivos dos sítios receptores dessa substância endógena e entretanto não possui a capacidade de inativar a histamina ou interferir em sua síntese ou liberação (32, 45, 53, 82).

Os efeitos da histamina são mediados por dois tipos de receptores, denominados receptores H_1 e H_2 . Os anti-histamínicos usuais, como por exemplo o cloridrato de prometazina, são antagonistas dos receptores do H_1 , e podem ser representados como derivados da etilamina (II). Comparando-se com a histamina (III), os antagonistas H_1 não contem um anel imidazólico e possuem radicais de substituição no aminogruppo da cadeia lateral. O grupamento X - ligado à cadeia lateral é que diferencia os anti-histamínicos H_1 entre si, e induz respostas biológicas variáveis (82).

II

III

Os anti-histamínicos são absorvidos em menos de trinta minutos após sua administração, atingindo uma concentração plasmática máxima após uma hora. O efeito farmacológico pode prolongar-se por quatro horas e, nos casos em que o fármaco está contido em formas farmacêuticas de liberação prolongada, tal efeito é mantido por dez a doze horas (53).

Os fármacos bloqueadores de receptores H_1 são principalmente empregados no tratamento sintomático de rinite alérgica e urticária; e, devido ao fato de alguns possuírem propriedades sedativas, são comercializados como indutores do sono. O cloridrato de prometazina, juntamente com a difenildramina e a pirilamina, inclui-se entre as substâncias antagonistas de receptores H_1 com finalidades sedativas. Tal propriedade faz com que a sonolência seja um efeito colateral desses fármacos, quando administrados com finalidades antialérgicas (4, 23, 82).

A prometazina, devido à sua ação anti-histamínica e anestésica local, pode ser utilizada em cremes medicamentosos, na concentração de 2%, para o tratamento de alergia cutânea e queimaduras. No entanto, a aplicação tópica desse fármaco deve ser evitada, pelo fato de provocar sensibilização cutânea (53).

Como antialérgico, o cloridrato de prometazina é administrado por via oral, na dose de 25 mg à noite, podendo-se aumentar a dosagem para 50 ou 75 mg se necessário. Em estados alergênicos graves, a administração do cloridrato de prometazina pode ser feita por injeção intramuscular profunda ou infusão intravenosa do injetável, o qual deve ser diluído para uma concentração de 2,5 mg/ml. Na medicação pré-anestésica, a posologia é de 25 a 50 mg para adultos, por via intramuscular, em associação com petidina e atropina. Como antiemético, a prometazina, na forma do sal cloridrato ou teoclato, é administrada via oral, na dose de 25 mg uma ou duas vezes ao dia (23, 53).

Dentre os efeitos colaterais provocados pelo cloridrato de prometazina, foram constatados alterações cardiovasculares após a administração endovenosa e intramuscular, além de angioedema, leucopenia, agranulocitose, trombose venosa, reações de fotossensibilidade e sonolência. (23, 53).

No que diz respeito à biotransformação, o cloridrato de prometazina, como as demais fenotiazinas, sofre um metabolismo intenso. O anel fenotiazínico é sulfoxidado e hidroxilado, principalmente nas posições 3 e 7. A cadeia lateral é mono ou didesmetilada e N-oxidada, e os metabólitos são excretados principalmente como glicuronídeos na urina (45, 60).

O cloridrato de prometazina apresenta-se sob a forma de pó cristalino, branco ou levemente amarelado, inodoro, não-higroscópico, de sabor amargo. Seu peso molecular é de 320,88 e o ponto de fusão entre 230 e 232⁰C. Devido ao fato de estar na forma de sal (cloridrato), é altamente solúvel em água, em metanol, etanol e clorofórmio e praticamente insolúvel em acetona, éter e acetato de etila. Soluções aquosas com 10% de cloridrato de prometazina apresentam um pH entre 5,0 a 6,0. Tanto a substância pura como suas soluções são facilmente oxidadas pela ação do oxigênio e da luz, tornando-se coloridas. O cloridrato de prometazina é incompatível com soluções de vários fármacos como, por exemplo, aminofilina, barbitúricos, sais de benzilpenicilina, carbenicilina, heparina, sais de hidrocortisona, sulfato de morfina, álcalis, etc. (12, 15, 53, 61, 62, 64, 75, 77).

GREEN (34) determinou a solubilidade de vários fenotiazínicos e antidepressivos tricíclicos, por um método turbidimétrico de simples aplicação. Tal método baseou-se na leitura da turbidimetria, na região do visível, de soluções de diferentes concentrações das substâncias testadas, previamente diluídas com soluções tampões de pH conhecido. A prometazina apresentou um valor de $pK_a = 9,1$ e uma solubilidade de $55 \mu M$, segundo o método proposto.

Uma interessante característica físicoquímica do cloridrato de prometazina, e outros fármacos pertencentes ao grupo das fenotiazinas, é a atividade surfactante. Tal propriedade é consequência da natureza anfipática de suas moléculas, o que leva à formação de agregados micelares em soluções aquosas, quando em quantidades acima da Concentração Micelar Crítica (CMC). Os fármacos pertencentes ao grupo dos antidepressivos tricíclicos como a imipramina, a amitriptilina e a nortriptilina; os anti-histamínicos clorciclizina e difenildramina, os anticolinérgicos orfenadrina e laquesina, os anestésicos locais como a tetracaína, são substâncias que também exibem atividade surfactante. A formação de micelas em soluções aquosas é resultante de uma interação entre as moléculas do fármaco. Tal interação pode alterar a velocidade de difusão desses fármacos através de

membranas biológicas, bem como as ligações a nível de receptores, comprometendo assim a atividade biológica do fármaco (15, 29).

ATTWOOD et al. (2) estudaram as propriedades dos fenotiazínicos responsáveis pela formação de agregados micelares em água e soluções aquosas salinas. Soluções de clorpromazina, promazina, tioridozina e prometazina foram submetidas à análise por "light scattering" e por ressonância nuclear magnética. Foi realizada também a determinação da mobilidade eletroforética, da condutividade, da viscosidade e da diálise. O objetivo de tal estudo era elucidar alterações físicoquímicas nas soluções dessas quatro substâncias, variando-se suas concentrações para valores inferiores e superiores, a sua CMC, e dessa forma, calcular a quantidade de monômeros e micelas presentes nessas soluções.

MEAKIN et al. (56) verificaram que a degradação termal do cloridrato de prometazina, em solução aquosa, apresenta um comportamento cinético complexo, constatando que a ordem de reação do processo de decomposição desse fenotiazínico depende de sua concentração em soluções aquosas. Atribuiu-se tal comportamento ao fato de se formarem agregados micelares, os quais poderiam estar alterando as características de polaridade e reatividade das moléculas de cloridrato de prometazina com o

oxigênio do meio, gerando assim, um efeito protetor contra a degradação de soluções desse fármaco, acima da CMC. A redução do caráter catiônico dos monômeros de cloridrato de prometazina pela formação de micelas também poderia estar retardando o ataque de íons hidroxilas nos complexos oxigênio-fármaco.

SAMIE et al. (67) estudaram o efeito da complexação da cafeína com derivados fenotiazínicos na estabilidade fotoquímica e no transporte "in vitro" dessas substâncias, utilizando soluções em concentrações inferiores e superiores a CMC.

2.2. DEGRADAÇÃO DO CLORIDRATO DE PROMETAZINA

O cloridrato de prometazina e outros fármacos da classe das fenotiazinas decompõem-se por reação de oxidação, pela ação do oxigênio e da luz, produzindo uma série de compostos. A Figura 1 mostra o mecanismo mais provável para a degradação oxidativa do cloridrato de prometazina em solução aquosa, bem como os seus produtos de degradação (15, 78, 79, 80).

O primeiro passo da degradação do cloridrato de prometazina (A) é a perda de um elétron e conseqüente formação de uma semiquinona de radical livre (B). Esta, por sua vez, devido à instabilidade, perde outro elétron originando, assim, um radical livre catiônico, ou seja, o íon fenazotônio (C). Este íon hidroliza-se, formando o principal produto de degradação, o sulfóxido de prometazina (D). A semiquinona de radical livre

(B) sofre uma clivagem na cadeia lateral, formando um intermediário (E), que pode ser reduzido, formando o produto de degradação 10-metilfenotiazina (F). O mesmo composto E pode sofrer mesomerização, hidrólise e oxidação, originando os seguintes produtos de degradação, a 3H-fenotiazina-3ona (G), a 7 hidroxí-3H-fenotiazina-3ona (H) e o sulfóxido de fenotiazina (I).

A degradação de fármacos fenotiazínicos é altamente influenciada pelo pH do meio, bem como pela presença de íons Fe^{+3} e Cu^{+2} . O aumento do pH acelera a velocidade de decomposição, provando que o fármaco é mais estável em pH ácido. Os íons Cu^{+2} catalisam a formação do composto B a partir de A, o que leva a um aumento na quantidade do produto de degradação F. Esses íons também influenciam a formação do intermediário E. Os íons Fe^{+3} atuam nas reações de degradação, promovendo um aumento acentuado na velocidade inicial de degradação do cloridrato de prometazina em soluções aquosas. No entanto, após um curto espaço de tempo, essa velocidade diminui e a reação segue-se da mesma forma que em meio isento de íons Fe^{+3} (80).

A literatura mostra vários trabalhos que tentam elucidar o mecanismo de oxidação de fenotiazínicos.

UNDERBERG (78, 79, 80) realizou extensos estudos sobre a degradação termal do cloridrato de prometazina em solução, na presença de oxigênio. Ao longo de sua investigação, identificou e determinou vários produtos de degradação desse fármaco, tais como a 10-metilfenotiazina, sulfóxido de fenotiazina, sulfóxido de prometazina, 7-hidroxi-3H-fenotiazina-3ona, acetaldeído, formaldeído e dimetilamina. A decomposição termal do cloridrato de prometazina em meio ácido, sob condições aeróbicas, ocorreu segundo reações de primeira ordem, e a velocidade de degradação foi influenciada por fatores como metais pesados, substâncias antioxidantes e pH do meio. Sob condições anaeróbicas, a degradação ocorreu somente no início do processo, provavelmente devido a traços de oxigênio contido na solução. Quando esse oxigênio foi totalmente consumido, a decomposição do cloridrato de prometazina foi bloqueada.

Figura 1: Degradação oxidativa do cloridrato de prometazina em solução aquosa.

STAVCHANSKY et al. (73) estudaram a influência do pH na estabilidade de soluções aquosas que contêm cloridrato de prometazina, frente a condições drásticas de temperatura e luz. As energias de ativação em pH 2,98, 3,94 e 5,12, obtidas a partir da equação de Arrhenius, foram 6601, 5888 e 5570 cal/mol⁻¹ respectivamente. O processo de degradação desse fármaco ocorreu segundo as reações de primeira ordem, e o aumento do pH levou a um aceleração da velocidade da reação. No entanto, a degradação fotolítica não seguiu uma cinética de primeira ordem propriamente dita.

O efeito da concentração do fármaco na degradação termal de soluções que contêm cloridrato de prometazina, na ausência de luz, foi minuciosamente verificado por MEAKIN et al. (56). Segundo os resultados obtidos por esses autores, o cloridrato de prometazina, em meio a tampão citrato pH = 4,0, concentração iônica de 0,5 M e contendo 0,1% de EDTA, degradou-se segundo reações de cinética de primeira ordem até concentrações de $1,56 \cdot 10^{-2} \text{M}$, e de ordem zero para concentrações maiores que $9,35 \cdot 10^{-2} \text{M}$. As cinéticas de degradação do cloridrato de prometazina foram influenciadas pelo estado físico das moléculas do fármaco em solução, ou seja, pela formação de micelas.

HACKMANN et al. (36) estudaram a estabilidade termal do cloridrato de levomepromazina, um derivado fenotiazínico de largo emprego no tratamento de pacientes psicóticos. Verificaram que a degradação desse fármaco segue uma cinética de reação de primeira ordem, e encontraram um prazo de validade (t_{90} a 25⁰C) de 735 dias para a forma farmacêutica testada.

As reações de fotossensibilidade constituem um dos efeitos colaterais apresentados durante a terapia com medicamentos que contêm fármacos fenotiazínicos (23, 53). Tais efeitos são decorrentes da fotolabilidade desses compostos, o que levou vários pesquisadores a isolarem e identificarem os produtos de degradação formados pela ação da luz.

SHARPLES (70) isolou e identificou os produtos de decomposição de alguns fármacos fenotiazínicos, em soluções de metanol, após sofrerem irradiação de luz ultravioleta por um período de três horas.

FELMEISTER e DISCHER (28) verificaram a fotodegradação do cloridrato de clorpromazina em solução aquosa, e concluíram que as reações parecem seguir cinéticas de ordem zero.

HUANG e SANDS (41, 42) expuseram soluções de cloridrato de clorpromazina à ação da luz, na ausência e na presença de oxigênio. Verificaram que, em condições anaeróbicas, predominou o processo de polimerização. A atividade biológica do polímero formado foi testada em voluntários humanos, indicando que esse composto causa uma leve irritação cutânea e descoloração da pele.

A estabilidade de toda preparação farmacêutica está diretamente relacionada ao seu acondicionamento. O material de acondicionamento é o recipiente que guarda, com contato direto em sua parte interna, as formas farmacêuticas para sua administração, preservando-os de agentes externos, tais como a umidade, a luz, o oxigênio, o dióxido de carbono, os agentes microbiano e a poeira, desde o estágio de manufatura até o tempo ou momento do uso (40, 50).

Vários fármacos sofrem alterações quando expostos à luz, o que resulta na perda da potência e/ou na mudança de suas características organolépticas. Nesses casos, torna-se necessário a escolha de um material de acondicionamento que bloqueie a passagem de luz, proporcionando, dessa forma, uma melhor estabilidade do produto farmacêutico durante o período de uso e estocagem (14, 17).

A Farmacopéia Americana (76) estabelece os limites máximos de transmissão de luz para recipientes de vidro e de plástico, utilizados no acondicionamento de preparações farmacêuticas parenterais, orais e tópicas.

HACKMANN et al. (37) estudaram a fotoestabilidade de soluções aquosas que contêm cloridrato de prometazina, acondicionados em frascos de vidro Tipo III USP, incolor e de cor âmbar. Pelos resultados obtidos, verificaram que as soluções mantidas em frascos de vidro âmbar foram mais protegidas da ação deletéria da luz.

BEYRICH et al. (7) utilizaram o cloridrato de prometazina, como modelo, para avaliar a eficiência de frascos de polietileno na estabilização de soluções desse composto, em comparação com os frascos de vidro. Pelos dados obtidos, concluíram que os frascos plásticos coloridos e o vidro de cor âmbar apresentaram uma melhor proteção contra a luz, quando comparados com os de cor branca ou incolores. Na ausência de luz, a diminuição do conteúdo de cloridrato de prometazina ocorreu mais intensamente nos frascos de polietileno. Esse comportamento foi verificado pelo fato de o material plástico ser permeável ao oxigênio, possuir traços de metais pesados que poderiam catalisar as reações de decomposição, além de adsorver certos princípios ativos.

Uma vez que a presença de oxigênio, traços de metais pesados e a luz são os principais fatores na degradação do cloridrato de prometazina, o uso de agentes antioxidantes, agentes quelantes e recipientes de cor âmbar, são procedimentos válidos para melhorar a estabilidade de preparações farmacêuticas que contêm esse fármaco (15).

Em muitos casos, somente a redução da concentração de oxigênio no meio não é suficiente para eliminar completamente a possibilidade de degradação, tornando-se necessário o uso de substâncias antioxidantes e agentes quelantes (49).

A influência de alguns antioxidantes e do EDTA na cinética de decomposição fotoquímica de soluções que contêm cloridrato de prometazina, foi estudada por COX et al. (16), os quais verificaram que o sistema antioxidante mais eficaz foi a associação de 0,5% de metabissulfito de sódio e 0,1% de EDTA.

RIGAMONTI (65) estudou a influência de seis antioxidantes na estabilidade de soluções injetáveis de cloridrato de tiamina e de éster monofosfórico de tiamina.

UNDERBERG (80) verificou que, em concentrações baixas, a hidroquinona e o ácido ascórbico diminuem a degradação do cloridrato de prometazina em soluções aquosas; porém, em concentrações altas, obteve um efeito inverso. Tal comportamento foi justificado pelo fato de os produtos de oxidação desses antioxidantes serem radicais e, devido a isso, poderem estar interferindo no processo de degradação do cloridrato de prometazina.

2.3. ESTABILIDADE

Atualmente, a verificação da estabilidade de fármacos e preparações farmacêuticas é considerada um procedimento preponderante, seja por razões éticas, econômicas, competitivas, ou de segurança e de eficácia (81).

A aplicação de princípios físicoquímicos na realização de estudos de estabilidade provou ser de grande valia no desenvolvimento de preparações farmacêuticas estáveis. Por meiodesses princípios, tornou-se possível analisar segura e adequadamente os dados obtidos em condições drásticas de estocagem, objetivando, assim, prever a estabilidade do produto em condições normais de armazenagem por longos períodos de tempo. Tal procedimento apresenta várias vantagens, principalmente para

o farmacêutico formulador, o qual pode colocar seu produto no mercado, em prazo de tempo menor. É importante acrescentar que um programa de estabilidade seguro somente é possível com a aplicação hábil dos princípios (50, 63, 81).

As reações de degradação que ocorrem em formulações farmacêuticas são de natureza química e possuem velocidade definida. Os caminhos da reação de degradação podem ser a hidrólise, a oxidação, a racemização, a descarboxilação, a clivagem de anel e a fotólise, sendo que os mais freqüentes são a hidrólise e a oxidação. Esses processos degradativos dependem de fatores como a concentração de reagentes, a temperatura, o pH, a radiação e a catálise, e seu estudo requer a aplicação de princípios de cinética química (29, 58).

Os produtos farmacêuticos degradam-se, na sua maioria, segundo reações de ordem zero, primeira ordem ou pseudo-primeira ordem, e uma pequena parte segundo reações de ordem superior.

A velocidade de reação pela qual um fármaco degrada é determinada segundo a ordem de reação. Essa velocidade de degradação geralmente é acelerada com o aumento da temperatura,

o que torna possível a predição da estabilidade de um produto sob condições normais de estocagem, a partir de resultados obtidos em temperaturas elevadas de armazenagem.

A equação proposta por Arrhenius apresenta-se como um método aplicável para expressar a influência da temperatura na velocidade de reação, e é usada para avaliar a estabilidade de produtos farmacêuticos à temperatura ambiente com base na velocidade de reação à temperatura superiores (1, 63, 81).

GARRET (31) realizou um extenso estudo sobre a determinação da estabilidade de fármacos e produtos farmacêuticos, utilizando condições drásticas de armazenagem.

AMIRJAHED (1) utilizou dados que simularam reações de cinética de zero, primeira, segunda e terceira ordens, em quatro temperaturas diferentes, com o objetivo de verificar a existência de uma relação linear entre o logarítmo do t_{90} (tempo requerido para que a concentração remanescente do fármaco atinja 90% da concentração inicial) e a recíproca da temperatura absoluta. A aplicação dessa relação linear na determinação da vida de prateleira (T_{90} a 25°C) de produtos farmacêuticos mostrou-se

adequada, uma vez que não houve diferenças significativas entre os dados obtidos por esse método e os da literatura.

LORDI e SCOTT (51) propuseram a utilização de gráficos para a análise dos dados obtidos nos ensaios a temperaturas elevadas, mostrando que tal procedimento é prático para estudos rotineiros de estabilidade. Verificaram ainda ser impossível determinar a ordem de reação, dentro dos limites do erro experimental dos estudos de estabilidade, quando a degradação é menor que 10%.

BENTLEY (6) apresentou a análise estatística dos mínimos quadrados como um método fácil para analisar os dados obtidos pela equação de Arrhenius, por meio de computador.

Os estudos isotérmicos de cinética de decomposição de fármacos contidos em produtos farmacêuticos, requerem um grande número de amostras estocadas em diferentes temperaturas, por um longo período de tempo, e baseiam-se na equação de Arrhenius.

WALTERSSON e LUNDGREN (84) demonstraram a precisão, a rapidez e a segurança do método anisotérmico na verificação da estabilidade da aspirina, benzocaína e riboflavina em solução. Tal método utiliza um programa de temperatura, o qual varia logaritmicamente ou linearmente ao longo do tempo. A maior

limitação do método anisotérmico, em estudos de estabilidade, é a segurança experimental, pelo fato de exigirem equipamentos sofisticados, como programador de temperatura, computador e registradores gráficos.

2.4. METODOLOGIA ANALÍTICA PARA A DETERMINAÇÃO DO CLORIDRATO DE PROMETAZINA

2.4.1. Métodos Oficiais

Vários métodos para a determinação do cloridrato de prometazina em formas farmacêuticas estão descritos em compêndios oficiais e, na sua maioria, baseiam-se em técnicas titulométricas e espectrofotométricas (11, 12, 13, 22, 25, 26, 61, 62, 76).

A Farmacopéia Britânica (11), a Farmacopéia Internacional (26), bem como a Farmacopéia Européia (25) oficializam o método de titulação em meio não-aquoso para a análise do cloridrato de prometazina, que é dissolvido em acetona e titulado

com ácido perclórico 0,1M, empregando solução de metil orange como indicador. A edição mais recente da Farmacopéia Britânica (12) e a Farmacopéia Alemã (22) indicam o método de titulação potenciométrica para sua determinação.

O método de titulação em meio não aquoso é preconizado pela Farmacopéia Americana (76) para o ensaio do cloridrato de prometazina. O meio de reação é uma solução de ácido acético glacial e acetato de mercúrio. A titulação é feita com ácido perclórico 0,1M e o cristal violeta é utilizado como indicador. A Farmacopéia Francesa (61) indica um método bastante semelhante, porém com a diferença de ainda acrescentar uma solução saturada de heliantina no meio de reação.

O método de análise do cloridrato de prometazina oficializado pela Farmacopéia Japonesa (62), baseia-se na titulação potenciométrica do fármaco, previamente dissolvido em solução de anidrido acético e ácido acético glacial, com ácido perclórico 0,1M em dioxano.

No que diz respeito à determinação do cloridrato de prometazina em medicamentos, os compêndios oficiais propõem a análise espectrofotométrica.

A Farmacopéia Americana (76) estabelece o método espectrofotométrico, na região do ultravioleta, para a análise do cloridrato de prometazina em soluções injetáveis, elixires e comprimidos, sendo que estes dois últimos são submetidos previamente a um moroso processo de extração.

Uma metodologia mais simples é sugerida pela Farmacopéia Britânica (13) para a quantificação do cloridrato de prometazina em formas farmacêuticas. Em soluções injetáveis, a análise é efetuada após sucessivas diluições do medicamento com ácido clorídrico 0,01M, seguido de leitura da absorbância a 249 nm. No caso de comprimidos, o cloridrato de prometazina é previamente extraído com ácido clorídrico 2M. As soluções de uso oral, mais especificamente os elixires, são avaliados quanto ao conteúdo de cloridrato de prometazina por método espectrofotométrico na região do visível ($\lambda = 472$ nm), utilizando o cloreto de paládium como reagente.

2.4.2. Métodos Gerais

A grande variedade de fármacos fenotiazínicos e sua importância na prática terapêutica levaram os pesquisadores a

estudar e desenvolver várias metodologias analíticas para a determinação dessas substâncias.

BLAŽEK et al (8) publicaram uma interessante coletânea de métodos para a análise de derivados fenotiazínicos. Encontra-se citada a metodologia para a identificação, doseamento e determinação em material biológico, e testes de estabilidade, para os principais fármacos fenotiazínicos, incluindo-se a prometazina.

As técnicas espectrofotométricas são muito utilizadas na análise de fenotiazínicos. A literatura mostra algumas variações nos métodos para adaptá-los às condições das amostras, ou seja, determinação em medicamentos e na presença de produtos de degradação.

KRÁČMAR (46) mostrou a importância da aplicação do método de espectrofotometria na região do ultravioleta para a determinação de várias classes de substâncias de uso terapêutico, tais como antibióticos, antimaláricos, antipiréticos, antissépticos, hormônios esteróides, hipnóticos, anestésicos locais, anti-histamínicos, bem como em estudos de estabilidade.

Os espectros de infravermelho, ultravioleta e ressonância nuclear magnética de vinte e três derivados fenotiazínicos foram obtidos e discutidos por WARREN et al. (85). O objetivo desses autores foi organizar os espectros dos fármacos fenotiazínicos e dessa maneira fornecer uma fonte para a identificação e elucidação da estrutura dessas substâncias em medicamentos e em material biológico.

Uma técnica espectrofotométrica na região do ultravioleta foi proposta por WALLACE e BIGGS (83) para a determinação específica de compostos fenotiazínicos em material biológico e na presença de outros fármacos. Tal método baseou-se na extração da referida substância, e posterior oxidação com óxido de cobalto (III) em de ácido clorídrico diluído. A leitura da absorbância foi realizada entre 220 a 360 nm.

O método de espectrofotometria por diferença foi proposto por DAVIDSON (18) para a análise de fármacos fenotiazínicos em preparações farmacêuticas. Segundo o autor, tal método é específico para a substância intacta, não sofrendo interferência dos excipientes e adjuvantes da preparação, bem como dos produtos de degradação. As amostras que continham substâncias fenotiazínicas eram oxidadas com uma solução de ácido

peroxiacético para formar o sulfóxido do derivado fenotiazínico, e a absorbância desta solução era lida a 345 nm, usando uma solução não oxidada como referência. A diferença de absorbância foi proporcional à substância fenotiazínica intacta.

HACKMANN et al. (38) utilizaram o método acima proposto e compararam-no com os métodos oficiais da Farmacopéia Britânica (12) e da Farmacopéia Americana (75) para a análise do cloridrato de prometazina em solução injetável, solução oral e drágea. Em outro trabalho (37), os mesmos autores utilizaram esse método para verificar a estabilidade de soluções de cloridrato de prometazina acondicionada em frascos de vidro tipo III USP, cor âmbar e incolores.

Um estudo preliminar da estabilidade da levomepromazina em preparações farmacêuticas, foi realizado por HACKMANN et al. (36). O método analítico quantitativo empregado foi o sugerido por DAVIDSON (18), modificado por HACKMANN et al. (38).

Baseando-se no fato de que o principal produto de degradação dos fenotiazínicos são seus respectivos sulfóxidos, DAVIDSON (19, 20) desenvolveu o método de espectrofotometria por diferença, para a determinação específica do sulfóxido de fenotiazina na presença do fármaco intacto. Tal método baseou-se

na diferença de absorbância entre a amostra que continha sulfóxido em solução de ácido clorídrico 0,2M e uma solução equimolar reduzida com zinco em pó.

GASCO e CARLOTTI (33) estudaram a cinética e o mecanismo de oxidação da prometazina e outros fármacos fenotiazínicos, pelo método de oxidação de aminas tricíclicas com sulfato cérico em ácido sulfúrico 1M. A reação química sugerida é a seguinte:

Após a reação, a absorbância era lida no comprimento de onda em que havia maior absorção do radical catiônico. A prometazina apresentou maior absorvidade a 515nm, pelo referido método.

A prometazina foi determinada na forma pura e em preparações farmacêuticas, por um método seletivo proposto por NYBERG (59). Em tal método, as aminas ou compostos de amônio quaternário são extraídos de um solvente orgânico como pares de íons com metilorange. MATSUI e FRENCH (54) utilizaram técnicas semelhantes para analisar misturas binárias de aminas de uso

farmacêutico, sem prévia separação. Dentre as combinações examinadas, estão a prometazina - efedrina e prometazina - codeína.

O método colorimétrico proposto por STAN et al. (72) mostrou ser rápido e de simples aplicação para o doseamento de derivados fenotiazínicos, em vários tipos de preparações farmacêuticas. Tal método utiliza o do ácido fosfomolibdico como reagente, o qual oxida o fármaco fenotiazínico para um radical catiônico, formando então com este o sal colorido. A reação colorimétrica não sofreu interferência dos excipientes das preparações farmacêuticas sólidas. No entanto, as preparações líquidas necessitaram de prévia extração do derivado fenotiazínico. O composto colorido formado quando da reação com cloridrato de prometazina apresentava absorção máxima a 525 nm.

TARASIEWICZ (74) desenvolveu um método colorimétrico para determinação da clorpromazina, levomepromazina e prometazina usando tiocianato de ferro como agente complexante.

SHARMA et al. (69) desenvolveram uma técnica de determinação voltamétrica para a análise de vários fármacos, inclusive os derivados fenotiazínicos na forma pura e em

medicamentos. Tal método mostrou ser de fácil execução, rápido e preciso.

O método analítico de polarografia também encontrou grande aplicação na determinação de derivados fenotiazínicos. KROSS e ROTH (48) empregaram, em estudos de estabilidade, a determinação polarográfica, precedida ou não de separação por cromatografia em camada delgada uni ou bidimensional, visando à identificação e quantificação de fármacos fenotiazínicos intactos e seus produtos de degradação. No estudo realizado por DUMORTIER e PATRIARCHE (24), derivados fenotiazínicos, inclusive a prometazina, foram determinados por polarografia.

BELTAGI et al. (5) descreveram um método titulométrico para a determinação de fármacos fenotiazínicos em pó e em preparações farmacêuticas. O método baseia-se na oxidação desses fármacos por monocloreto de iodo, em meio ácido, e titulação do iodo liberado com iodato de potássio. A metodologia proposta provou ser mais específica, sensível e rápida do que os métodos oficiais.

Os métodos cromatográficos apresentam grande aplicação na identificação, separação e quantificação de fármacos

fenotiazínicos, justificando assim a grande variedade de trabalhos sobre esse assunto. As diferentes técnicas cromatográficas tornaram-se valiosas na determinação de substâncias fenotiazínicas presentes em material biológico, medicamentos, associações medicamentosas e em estudo de estabilidade.

BLAŽEK e STEJSKAL (9), em trabalho de revisão, deram especial atenção aos métodos cromatográficos para identificação e determinação de derivados fenotiazínicos em material biológico. Os métodos descritos incluíram cromatografia em papel, cromatografia em camada delgada, cromatografia gasosa e cromatografia em coluna.

MEAKIM et al. (55) descreveram uma avaliação comparativa das técnicas de cromatografia gasosa e cromatografia em camada delgada, para a determinação do cloridrato de prometazina em presença de produtos de degradação. Por tais métodos, foi possível verificar a cinética de decomposição termal e fotolítica do cloridrato de prometazina em soluções aquosas. Os resultados obtidos mostraram que ambos os métodos eram satisfatórios. O método de cromatografia gasosa era de fácil execução e não exigia prévia extração do fármaco intacto com solventes orgânicos.

A técnica de cromatografia gasosa, precedida de extração com solvente orgânico foi desenvolvida por STAVCHANSKY et al. (72) especificamente para determinar o cloridrato de prometazina em supositórios de polietilenoglicol, os quais foram submetidos a testes de estabilidade. A prévia extração objetivou proteger os detectores de ionização de chama dos efeitos adversos de polietilenoglicol.

SANTORO et al. (68) padronizaram um método por cromatografia líquida em fase reversa para a determinação quantitativa dos cloridratos de prometazina e clorpromazina em soluções injetáveis. A análise era rápida e de fácil execução.

A técnica de cromatografia em camada delgada tem sido extensamente explorada para o isolamento e a identificação de fármacos fenotiazínicos e seus produtos de decomposição.

Os sulfóxidos dos derivados fenotiazínicos podem ser valiosos para identificação desses fármacos. Com base nesse fato, KOFOED et al. (44) desenvolveram um método rápido e seguro para preparar os sulfóxidos de vários derivados fenotiazínicos, inclusive a prometazina. O método estudado foi a

conversão desses fármacos para o correspondente sulfóxido em placas de camada delgada.

O cloridrato de prometazina, bem como vários outros fármacos fenotiazínicos foram identificados por DE LEENHEER (21) pelo método de cromatografia em camada delgada utilizando dois sistemas solventes diferentes e vários reagentes reveladores.

GRUSZ-HARDAY (35) identificou alguns derivados fenotiazínicos por cromatografia em camada delgada. O sistema eluente empregado foi o ciclohexano/benzeno/dietilamina (75:15:10), e a revelação ocorreu em atmosfera de bromo.

Alguns produtos de fotodecomposição do cloridrato de prometazina em solução aquosa foram isolados e identificados por BORNSCHEIN et al. (10) pelo método de cromatografia em camada delgada. O reagente de Dragendorff revelou os produtos que possuíam átomo de nitrogênio em suas moléculas. Após a cromatografia, os produtos obtidos foram avaliados por espectrofotometria na região do ultravioleta e espectrometria de massa.

ROSEBOOM e FRESEM (66) isolaram e identificaram alguns produtos da decomposição termal de uma solução hidroalcoólica de fenotiazina, saturada com oxigênio. O isolamento foi realizado por meio de cromatografia em camada delgada e em coluna, e a identificação pela determinação do ponto de fusão, espectro de ultravioleta, espectro de massa e polarografia.

Com o objetivo de desenvolver um sistema revelador seletivo para fármacos fenotiazínicos e seus produtos de degradação em placas de camada delgada, HACKMANN et al. (39) testaram o ácido sulfanílico diazotizado. Tal reagente proporcionou uma revelação instantânea e estável das diferentes substâncias testadas e dos seus respectivos produtos de degradação.

As associações medicamentosas são muito comuns em formulações farmacêuticas. A presença de dois ou mais fármacos interferem nos seus métodos de análise, sendo necessário muitas vezes, submeter previamente as preparações a um processo de separação desses fármacos. SMITH (71) padronizou um método de cromatografia de troca-iônica para a separação de fenotiazinas de vários outros fármacos. Pelo método proposto, foi possível separar, por exemplo, o cloridrato de prometazina da associação com fosfato de codeína, sulfoguaiacolato de potássio, fenilefrina e cloridrato de fenilpropanolamina.

3. PROPOSIÇÃO

1. Padronização de métodos analíticos para a determinação do cloridrato de prometazina (espectrofotometria no ultravioleta e cromatografia em camada delgada) para utilização em estudos de estabilidade.
2. Desenvolvimento de preparações farmacêuticas injetáveis contendo cloridrato de prometazina e diferentes associações de substâncias antioxidantes.
3. Armazenamento das preparações farmacêuticas a 37°C, 50°C e 70°C durante períodos de tempo pré-determinados.
4. Aplicação do método espectrofotométrico nas amostras simuladas e submetidas ao estudo acelerado de estabilidade.
5. Determinação da cinética de decomposição do cloridrato de prometazina.
6. Determinação do prazo de validade (t_{90} a 25°C) das preparações farmacêuticas.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. REAGENTES, SOLUÇÕES E SOLVENTES

Para o desenvolvimento do presente estudo foram empregados os seguintes reagentes e solventes de grau de pureza pró-análise:

- . Acetona - MERCK
- . Metanol - MERCK
- . Ácido clorídrico 37% - MERCK
- . Hidróxido de amônio 25% - MERCK
- . Peróxido de hidrogênio 30% - MERCK
- . Ácido acético glacial - MERCK
- . Sílica gel GF₂₄₅ - MERCK
- . Solução aquosa de ácido clorídrico 0,01M
- . Reagente de Dragendorff (57)
- . Iodo - MERCK
- . Solução aquosa de peróxido de hidrogênio a 15% v/v

4.1.2. PADRÃO

O cloridrato de prometazina foi gentilmente cedido pelo Departement Chimie Pharmaceutique - RHÔNE - POULENC SANTE (França) e também foi utilizado como matéria prima para a preparações das amostras simuladas.

O sulfóxido de prometazina foi sintetizado em nosso laboratório.

4.1.3. AMOSTRAS SIMULADAS

Foram empregadas oito amostras simuladas com a concentração de 25,0mg de prometazina/mL. A amostra 1 simulou formulação de injetável encontrada comercialmente. Nas amostras 2, 3, 4, 5, 6 e 7 variou-se a associação de antioxidantes mantendo-se as mesmas concentrações de cloridrato de prometazina e cloreto de sódio. A amostra 8 representou uma formulação controle, sem antioxidantes.

As formulações das oito amostras simuladas estão descritas na Tabela 1.

TABELA 1: Formulações das amostras simuladas.

COMPONENTES	CONCENTRAÇÃO DOS COMPONENTES (g/100,0mL)							
	AMOSTRAS							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Cloridrato de prometazina	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8	2,8
Cloreto de sódio	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Ácido ascórbico	0,2	0,2	0,2	0,2	-	-	-	-
Metabissulfito de potássio	0,1	0,1	-	-	0,1	-	0,1	-
Bissulfito de potássio	0,1	-	0,1	-	0,1	0,1	-	-
Água destilada - qsp	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

Os componentes empregados nas formulações, com exceção do cloridrato de prometazina foram de grau farmacêutico e a água utilizada foi destilada pouco antes do uso.

As amostras simuladas foram preparadas segundo técnica adequada e acondicionadas em ampolas de cor âmbar com capacidade de 5mL. Em cada ampola colocou-se 3mL das amostras.

4.1.4. EQUIPAMENTOS E ACESSÓRIOS

- . Espectrofotômetro BECKMAN, Mod. DU-70, acoplado à impressora, com cubetas de 1cm.
- . Estufas FANEM com termostato.
- . Balança analítica METLER H 10W, para carga máxima de 160g
- . Agitador mecânico TAYO S-SF, tipo mixer.
- . Balões volumétricos, com capacidade para 5, 10 e 100mL.
- . Pipetas volumétricas.
- . Placas de vidro - 20 X 20cm.
- . Lâmpada MINE RALIGHT UVSL - 25 max. 245 366nm, para localização de substâncias em cromatoplacas.
- . Espalhador DESAGA para a preparação de cromatoplacas.
- . Microcomputador MICROTEC, Modelo MS-88.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. APLICAÇÃO DO MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

O método espectrofotométrico preconizado pela Farmacopéia Britânica (13) foi utilizado para a determinação da concentração remanescente de cloridrato de prometazina nas amostras submetidas ao estudo de estabilidade.

4.2.1.1. Curva padrão de calibração.

Para a determinação da curva padrão de calibração, foram pesados exatamente 25 ,0mg de cloridrato de prometazina, transferindo-se para um balão volumétrico de 100mL. Adicionou-se ácido clorídrico 0,01M para dissolução. Completou-se o volume com a mesma solução ácida. Uma alíquota de 10,0mL foi transferida

para um balão volumétrico de 100mL e o volume completado com ácido clorídrico 0,01M. Obtêve-se, assim, uma solução contendo 25,0 µg de cloridrato de prometazina/mL. A partir dessa solução transferiram-se oito alíquotas de 0,5 a 3,0mL, para cada três séries de balões volumétricos de 10mL, onde foi completado o volume com ácido clorídrico 0,01M. Desta maneira, obtiveram-se soluções com concentrações finais de 1,25 a 7,50 µg de cloridrato de prometazina/mL. As leituras das absorbâncias foram efetuadas a 248nm utilizando-se solução de ácido clorídrico 0,01M como branco. A curva de calibração foi obtida através da projeção, no eixo das abscissas (x), dos valores das concentrações de cloridrato de prometazina (µg/mL); e, no eixo das ordenadas (y), as absorbâncias referentes as triplicatas para cada concentração.

Foi determinado o espectro de absorção do cloridrato de prometazina em meio a ácido clorídrico 0,01M com solução de concentração igual a 4,0 µg/ml.

Todos os procedimentos foram efetuados ao abrigo da luz.

4.2.1.2. Verificação da interferência dos adjuvantes contidos nas amostras simuladas.

Com o propósito de verificar a possível interferência dos adjuvantes das formulações, aplicou-se o método espectrofotométrico aos placebos das diferentes amostras simuladas. Efetuou-se também o espectro de absorção em ácido clorídrico 0,01M.

4.2.1.3. Aplicação do método nas amostras simuladas.

Transferiram-se duas alíquotas de 1,0mL das amostras simuladas (correspondentes a 25,0mg de prometazina) para balões volumétricos de 100mL. Completou-se o volume com ácido clorídrico 0,01M. De cada uma dessas soluções transferiu-se 1,0mL para balões de 10,0mL completando-se o volume com ácido clorídrico 0,01M. Finalmente, 1,0mL dessas soluções foram diluídos com ácido clorídrico 0,01M em balões de 5mL. As soluções obtidas contêm teoricamente 5,6 µg de cloridrato de prometazina/mL. A leitura das absorbâncias foi realizada contra o ácido clorídrico 0,01M a 248nm. Todos os procedimentos acima descritos foram realizados ao abrigo da luz.

4.2.2. ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADO

Ampolas de amostras simuladas, foram armazenadas em estufas termostatzadas nas temperaturas de 37°C, 50°C e 70°C, por um período de 84 dias. Em intervalos de tempo pré-estabelecidos, as amostras foram coletadas e analisadas, quanto ao conteúdo de cloridrato de prometazina remanescente, pelo método espectrofotométrico no ultravioleta. Foram utilizadas para as análises amostras em duplicatas.

Um lote de amostras, empregado como controle, foi armazenado ao abrigo da luz e à temperatura ambiente.

4.2.3. SÍNTESE DO SULFÓXIDO DE PROMETAZINA

O sulfóxido de prometazina, principal produto de degradação do cloridrato de prometazina foi obtido em solução, a partir do padrão, conforme método proposto por DE LEENHEER (21).

Foram pesados 10,0mg de cloridrato de prometazina, transferidos para balão volumétrico de 10mL e dissolvidos em

1,0mL de peróxido de hidrogênio a 15%. Em seguida, adicionaram-se 2,0mL de ácido acético glacial. A mistura foi mantida em banho termostátizado a 60°C por um período de 30 minutos. Completou-se o volume com água destilada.

4.2.3.1. Caracterização do sulfóxido de prometazina.

Com o objetivo de averiguar a interferência do produto de degradação no método espectrofotométrico, foi efetuado o espectro de absorção do sulfóxido de prometazina obtido por síntese, em ácido clorídrico 0,01M.

Transferiu-se 1,0mL da solução de sulfóxido de prometazina para balão volumétrico de 100ml e completou-se o volume com ácido clorídrico 0,01M. Obtêve-se solução de sulfóxido de prometazina na concentração de 10 µg/mL. O espectro de absorção foi obtido utilizando-se o ácido clorídrico 0,01M como referência.

4.2.4. CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Além da análise do conteúdo de cloridrato de prometazina nas amostras simuladas, foi realizado um acompanhamento da degradação

através da cromatografia em camada delgada. Para tanto, utilizaram-se placas de sílica gel GF₂₅₄ de 0,25mm de espessura em suporte de vidro medindo 20 X 20cm. As placas foram ativadas em estufa a 100°C durante 30 minutos.

O sistema eluente bem como os reveladores para a separação cromatográfica do cloridrato de prometazina e de seus produtos de degradação foram os propostos por MEAKIN et al. (55).

A solução eluente utilizada foi composta de acetona-metanol-hidróxido de amônia 25% (140:60:2).

As amostras simuladas, bem como o padrão, foram diluídos com metanol de forma a se obter solução contendo aproximadamente 1,0 µg de cloridrato de prometazina/mL.

As placas de sílica foram divididas em áreas sendo que duas áreas foram reservadas para o padrão e para o sulfóxido de prometazina.

Aplicou-se 10 µl das amostras devidamente diluídas nas placas com o auxílio de capilares de vidro graduados. O cromatograma foi desenvolvido até 15cm a partir do ponto de aplicação das amostras em cubas de vidro retangular medindo 22 X

22 X 10cm. Estas cubas foram envolvidas com papel de alumínio para proteger o cromatograma da ação da luz. Após a fase móvel atingir a linha de frente, as placas foram retiradas das cubas e secas por jato de ar quente.

Na revelação das placas utilizou-se luz ultravioleta a 245nm, e posteriormente iodo ressublimado e o reagente de Dragendorff.

5. RESULTADOS

5.1. MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

5.1.1. CURVA PADRÃO DE CALIBRAÇÃO.

Para a elaboração da curva padrão de calibração, foram feitas diluições, em triplicatas, conforme descrito 4.2.1.1. Os dados obtidos, presentes na Tabela 2, deram origem a curva de calibração representada pela Figura 2.

O espectro de absorção do cloridrato de prometazina em ácido clorídrico 0,01M na concentração de 4,0 µg/mL pode ser visualizado na Figura 3.

TABELA 2: Resultados experimentais obtidos na padronização do método espectrofotométrico para o cloridrato de prometazina. Leituras realizadas a 248nm.

CONCENTRAÇÃO (μ g/mL)	ABSORBÂNCIA
1,250	0,1121
1,250	0,1028
1,250	0,1099
2,500	0,2186
2,500	0,2007
2,500	0,1996
3,750	0,3227
3,750	0,3074
3,750	0,3081
5,000	0,4230
5,000	0,4298
5,000	0,4282
7,500	0,6372
7,500	0,6442
7,500	0,6429

Figura 2: Representação da curva de calibração para a determinação do cloridrato de prometazina pelo método espectrofotométrico.

Figura 3: Espectro de absorção do cloridrato de prometazina (4,0 $\mu\text{g/mL}$) em ácido clorídrico 0,01M.

5.1.2. VERIFICAÇÃO DA INTERFERÊNCIA DOS ADJUVANTES CONTIDOS NAS AMOSTRAS SIMULADAS.

Amostras placebos referentes às simuladas foram submetidas ao doseamento pelo método espectrofotométrico conforme descrito em 4.2.1.3. Os resultados obtidos foram praticamente nulos, indicando que nestas concentrações os adjuvantes das formulações das amostras simuladas não interferem no método analítico.

Os espectros de absorção dos placebos mostraram que os componentes das amostras não apresentaram absorção nestas concentrações na região do ultravioleta.

5.1.3. APLICAÇÃO DO MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO NAS AMOSTRAS SIMULADAS.

As amostras simuladas foram submetidas à análise do conteúdo de cloridrato de prometazina segundo o método espectrofotométrico. Os procedimentos efetuados estão descritos em 4.2.1.3. Os resultados foram obtidos utilizando-se da curva padrão de calibração do cloridrato de prometazina.

5.2. ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADO

Através do método espectrofotométrico obtiveram-se os valores de teor percentual de cloridrato de prometazina nas amostras simuladas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, conforme indicam as Tabelas 3 e 4.

As Figuras 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11 representam os gráficos log concentração (%) X tempo (dias) para as amostras simuladas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8, respectivamente.

Com base nos valores experimentais de teor percentual de cloridrato de prometazina calculou-se a constante de velocidade, segundo a reação de decomposição de primeira ordem e o prazo de validade (t_{90} a 25°C), ou seja, o período no qual a quebra dos princípios ativos de um produto não exceda 10%, para as amostras

simuladas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8. Os resultados estatísticos e cinéticos encontram-se identificados na Tabela 5 (amostras 1 e 2), Tabela 6 (amostras 3 e 4), Tabela 7 (amostras 5 e 6) e Tabela 8 (amostras 7 e 8).

Tabela 3: Resultados obtidos na análise de cloridrato de prometazina pelo método espectrofotométrico para as amostras 1, 2, 3 e 4 após armazenamento a 37°C, 50°C e 70°C.

		CONCENTRAÇÃO DE CLORIDRATO DE PROMETAZINA (%)*											
Amostras Simuladas	Temp. (°C)	1			2			3			4		
		37	50	70	37	50	70	37	50	70	37	50	70
0		107,10	107,10	107,10	111,80	111,80	111,80	110,0	110,0	110,0	101,80	101,80	101,80
3		106,98	106,82	105,99	111,57	111,26	110,27	109,93	109,43	108,85	100,19	96,97	92,37
7		106,76	106,40	104,46	111,17	110,69	108,22	109,51	108,66	107,61	98,06	91,59	80,86
14		106,25	105,51	101,82	110,69	109,45	104,76	109,08	107,25	105,22	94,50	81,48	64,68
28		105,36	103,60	104,19	109,59	107,39	98,24	108,06	104,86	100,74	80,62	64,86	76,95
42		104,92	101,75	92,15	108,50	110,53	92,09	107,07	102,33	103,25	81,38	70,43	26,11
56		104,07	100,74	87,53	107,42	103,20	86,27	109,12	100,01	92,16	75,62	41,10	16,59
84		102,31	96,06	79,05	105,29	99,15	75,78	104,28	95,12	84,50	65,22	28,64	6,87

* Média de dois resultados.

Tabela 4: Resultados obtidos na análise de cloridrato de prometazina pelo método espectrofotométrico para as amostras 5, 6, 7 e 8 após armazenamento a 37°C, 50°C e 70°C.

		CONCENTRAÇÃO DE CLORIDRATO PROMETAZINA (%)*											
Amostras Simuladas		5			6			7			8		
Dias	Temp. (°C)	37	50	70	37	50	70	37	50	70	37	50	70
0		104,30	104,30	104,30	110,40	110,40	110,40	97,90	97,90	97,90	100,70	100,70	100,70
3		104,04	103,58	102,68	110,12	109,53	108,57	97,60	96,96	95,57	98,80	97,03	90,97
7		103,69	102,60	100,56	109,75	108,38	106,18	97,24	95,21	92,55	96,33	92,53	79,49
14		103,09	100,95	96,96	109,09	106,40	106,74	96,56	93,63	87,49	92,16	85,01	62,74
28		101,90	97,71	90,09	110,05	102,48	94,46	95,12	89,49	78,28	84,30	71,97	65,62
42		100,77	94,62	83,80	106,50	98,78	87,34	93,80	85,52	77,42	77,13	79,43	24,50
56		99,67	91,54	77,91	105,22	95,18	80,78	92,50	81,71	62,49	70,61	50,29	15,09
84		97,28	85,76	67,34	102,72	88,30	69,10	89,79	74,77	49,92	59,18	36,15	5,99

* Média de dois resultados.

Figura 4: Gráfico log concentração remanescente de cloridrato de prometazina (%) X tempo (dias) referente à AMOSTRA 1.

Figura 5: Gráfico log concentração remanescente de cloridrato de prometazina (%) X tempo (dias) referente à AMOSTRA 2.

Figura 6: Gráfico log concentração remanescente de cloridrato de prometazina (%) X tempo (dias) referente à AMOSTRA 3.

Figura 7: Gráfico log concentração remanescente de cloridrato de prometazina (%) X tempo (dias) referente à AMOSTRA 4.

Figura 8: Gráfico log concentração remanescente de cloridrato de prometazina (%) X tempo (dias) referente à AMOSTRA 5.

Figura 9: Gráfico log concentração remanescente de cloridrato de prometazina (%) X tempo (dias) referente à AMOSTRA 6.

Figura 10: Gráfico log concentração remanescente de cloridrato de prometazina (%) X tempo (dias) referente à AMOSTRA 7.

Figura 11: Gráfico log concentração remanescente de cloridrato de prometazina (%) X tempo (dias) referente à AMOSTRA 8.

Tabela 5: Resultados cinéticos e estatísticos obtidos a partir dos valores de teor percentual nas amostras simuladas 1 e 2.

Amostras Simuladas	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	a	b	r	k (dias^{-1})	t ₉₀ (dias)
1	37	2,0299	-0,0002	0,9946	$5,386 \cdot 10^{-4}$	194,90
	50	2,03072	-0,0005	0,9965	$1,1386 \cdot 10^{-3}$	92,20
	70	2,0341	-0,0016	0,9970	$3,6100 \cdot 10^{-3}$	29,10
2	37	2,0484	-0,0003	0,9976	$7,2790 \cdot 10^{-4}$	144,30
	50	2,0496	-0,0006	0,9194	$1,4780 \cdot 10^{-3}$	71,04
	70	2,0484	-0,0020	0,9999	$4,6330 \cdot 10^{-3}$	22,66

Tabela 6: Resultados cinéticos e estatísticos obtidos a partir dos valores de teor percentual nas amostras simuladas 3 e 4.

Amostras Simuladas	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	a	b	r	k (dias^{-1})	t_{90} (dias)
3	37	2,0415	-0,0002	0,9960	$6,3930 \cdot 10^{-4}$	164,24
	50	2,0413	-0,0007	1,0003	$1,7357 \cdot 10^{-3}$	60,49
	70	2,0427	-0,0013	0,9892	$3,2100 \cdot 10^{-3}$	32,71
4	37	2,0029	-0,0023	0,9895	$5,3168 \cdot 10^{-3}$	19,75
	50	2,0123	-0,0064	0,9898	$1,5767 \cdot 10^{-2}$	6,66
	70	2,0415	-0,0140	0,9985	$3,2433 \cdot 10^{-2}$	3,24

Tabela 7: Resultados cinéticos e estatísticos obtidos a partir dos valores de teor percentual nas amostras simuladas 5 e 6.

Amostras Simuladas	Temp. ($^{\circ}\text{C}$)	a	b	r	k (dias^{-1})	t_{90} (dias)
5	37	2,0183	-0,0004	0,9964	$8,2430 \cdot 10^{-4}$	127,38
	50	2,0183	-0,0010	0,9997	$2,3241 \cdot 10^{-3}$	45,18
	70	2,0182	-0,0023	0,9999	$5,2140 \cdot 10^{-3}$	20,14
6	37	2,0442	-0,0004	0,9958	$8,5820 \cdot 10^{-4}$	122,35
	50	2,0430	-0,0012	0,9994	$2,6500 \cdot 10^{-3}$	39,62
	70	2,0468	-0,0025	1,0000	$5,5700 \cdot 10^{-3}$	18,85

Tabela 8: Resultados cinéticos e estatísticos obtidos a partir dos valores de teor percentual nas amostras simuladas 7 e 8.

Amostras Simuladas	Temp. (°C)	a	b	r	k (dias ⁻¹)	t ₉₀ (dias)
7	37	1,9909	-0,0004	0,9993	1,0110.10 ⁻³	103,86
	50	1,9903	-0,0014	0,9996	3,3240.10 ⁻³	31,59
	70	1,9937	-0,0034	1,0000	8,0200.10 ⁻³	13,09
8	37	2,0029	-0,0027	1,0000	6,3400.10 ⁻³	16,56
	50	2,0112	-0,0051	0,9978	1,2200.10 ⁻²	8,61
	70	2,0316	-0,0147	0,9998	3,3800.10 ⁻²	3,11

Os valores das constantes de velocidade de decomposição do cloridrato de prometazina para as diferentes amostras simuladas, nas temperaturas de 37°C, 50°C e 70°C foram representados em gráficos $\log k$ contra a recíproca das temperaturas absolutas, conforme indicam as Figuras 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18 e 19.

As curvas obtidas permitem estimar as constantes de velocidade de decomposição à temperatura de 25°C, bem como a t_{90} do cloridrato de prometazina para as amostras simuladas. Estes valores podem ser observados na Tabela 9.

Figura 12: Gráfico $\log k$ (dias^{-1}) X recíproca da temperatura absoluta ($1/T \times 10^3$).

Figura 13: Gráfico $\log k$ (dias^{-1}) X recíproca da temperatura absoluta ($1/T \times 10^3$).

Figura 14: Gráfico $\log k$ (dias^{-1}) X recíproca da temperatura absoluta ($1/T \times 10^3$).

Figura 15: Gráfico log k (dias^{-1}) X recíproca da temperatura absoluta ($1/T \times 10^3$).

Tabela 9: Resultados cinéticos obtidos algebricamente e graficamente para as amostras simuladas a 25°C.

AMOSTRAS	MÉTODO ALGÉBRICO		MÉTODO GRÁFICO	
	k (dias ⁻¹)	t ₉₀ (dias)	k (dias ⁻¹)	t ₉₀ (dias)
1	2,558.10 ⁻⁴ ^a	410,5	2,3751.10 ⁻⁴	442,1
2	3,360.10 ⁻⁴ ^b	312,5	3,2538.10 ⁻⁴	322,7
3	3,250.10 ⁻⁴ ^c	323,1	3,7305.10 ⁻⁴	281,5
4	2,495.10 ⁻³ ^d	42,1	2,8676.10 ⁻³	36,6
5	3,810.10 ⁻⁴ ^e	275,6	4,2566.10 ⁻⁴	246,7
6	3,920.10 ⁻⁴ ^f	267,9	4,5371.10 ⁻⁴	231,4
7	4,249.10 ⁻⁴ ^g	247,1	4,8697.10 ⁻⁴	215,6
8	3,147.10 ⁻³ ^h	33,4	3,0799.10 ⁻³	34,1

a, b, c, d, e, f, g, e h calculado a partir de Ea de 11,95; 11,85; 10,33; 11,58; 11,81; 11,98; 13,26 e 10,72 kcal.mol⁻¹.K⁻¹, respectivamente, obtidas pela aplicação da relação de Ahrrenius entre as temperaturas 37°C e 70°C.

5.3. CARACTERIZAÇÃO DO SULFÓXIDO DE PROMETAZINA OBTIDO POR SÍNTESE

Os espectros de absorção do sulfóxido de prometazina e do cloridrato de prometazina encontram-se na Figura 16.

Figura 16: Espectro de absorção no ultravioleta ———
cloridrato de prometazina (4,0 $\mu\text{g/mL}$) e —•—
sulfóxido de prometazina (10,0 $\mu\text{g/mL}$).

5.4. CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA

Os cromatogramas referentes às amostras 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 estão representados nas Figuras 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 e 24, respectivamente. As manchas correspondentes ao cloridrato de prometazina, sulfóxido de prometazina e outros produtos de degradação foram detectados sob luz ultravioleta (245nm), seguido de revelação com iodo ressublimado e reagente de Dragendorff. Os valores de R_f obtidos para as diferentes manchas encontram-se na Tabela 11.

Tabela 10: Valores de R_f obtidos para as diferentes manchas reveladas nos cromatogramas das amostras 1 a 8.

MANCHA	$R_f \times 100$	COLORAÇÃO (Reagente de Dragendorff)
Cloridrato de prometazina (padrão)	74	laranja
Sulfóxido de prometazina (síntese)	62	laranja
Mancha I	74	laranja
Mancha II	62	laranja
Mancha III	89	violeta
Mancha IV	93	azul

Figura 17: Cromatograma da AMOSTRA 1. Pp = padrão do cloridrato de prometazina, S = sulfóxido de prometazina.

Figura 18: Cromatograma da AMOSTRA 2. Pp = padrão do cloridrato de prometazina, S = sulfóxido de prometazina.

Figura 19: Cromatograma da AMOSTRA 3. Pp = padrão do cloridrato de prometazina, S = sulfóxido de prometazina.

Figura 20: Cromatograma da AMOSTRA 4. Pp = padrão do cloridrato de prometazina, S = sulfóxido de prometazina.

Figura 21: Cromatograma da AMOSTRA 5. Pp = padrão do cloridrato de prometazina, S = sulfóxido de prometazina.

Figura 22: Cromatograma da AMOSTRA 6. Pp = padrão do cloridrato de prometazina, S = sulfóxido de prometazina.

Figura 23: Cromatograma da AMOSTRA 7. Pp = padrão do cloridrato de prometazina, S = sulfóxido de prometazina.

Figura 24: Cromatograma da AMOSTRA 8. Pp = padrão do cloridrato de prometazina, S = sulfóxido de prometazina.

6. DISCUSSÃO

Os derivados fenotiazínicos possuem uma vasta utilização na prática clínica, devido aos seus efeitos antieméticos, antináusea, anti-histamínicos, neurolépticos, bem como a capacidade de potencializar analgésicos, sedativos e anestésicos gerais.

O cloridrato de prometazina está presente no arsenal terapêutico sob várias formas farmacêuticas, principalmente líquidas (xaropes, elixires e injetáveis) e devido a sua pronunciada labilidade frente a fatores extrínsecos, como oxigênio e luz, torna-se preponderante o desenvolvimento de formulações estáveis. Em tal desenvolvimento, deve-se selecionar adjuvantes adequados que impeçam ou retardem a oxidação do referido fármaco.

Muitos fármacos apresentam-se com estrutura na sua forma reduzida, e a presença de oxigênio no meio pode levá-los a

um maior estado de oxidação. No entanto, existe uma barreira de energia a ser superada para ocorrer muitas dessas reações, denominada energia de ativação. Quando se trata de reação desta natureza é importante lembrar o envolvimento de um sistema redox.

Conforme indicado na Figura 1, a prometazina pode sofrer oxidação, via mecanismos de radical livre, por dois caminhos paralelos, dando origem a vários produtos de degradação, influenciados por fatores tais como pH, íons metálicos, antioxidantes e agentes quelantes.

Segundo a literatura, os estudos de estabilidade de preparações farmacêuticas contendo cloridrato de prometazina parecem não estar bem documentados, exceto ao trabalho de COX et al. (16). Esses autores verificaram a influência de algumas substâncias antioxidantes na cinética de decomposição fotoquímica do cloridrato de prometazina.

Partindo-se da premissa que os agentes antioxidantes e quelantes protegem formulações farmacêuticas contendo substâncias oxidáveis, é importante verificar a capacidade desses antioxidantes, isolados e quando associados, com o intuito de dar maior proteção à formulação farmacêutica.

Com o objetivo de proporcionar um melhor entendimento do mecanismo de ação dos agentes antioxidantes e quelantes em prevenir a degradação de fármacos, encontra-se esquematizado logo a seguir as fases da autooxidação de uma substância mediada por radicais livres (49).

FASE DE INICIAÇÃO

FASE DE PROPAGAÇÃO

FASE TERMINAL

Os catalizadores negativos, ou seja, os agentes antioxidantes, tem sido empregados com o objetivo de proporcionar maior estabilidade às preparações farmacêuticas. As reações seguintes demonstram a maneira pela qual os antioxidantes (inibidores de radicais livres) funcionam:

Nas reações 1 e 2 ocorreram a formação de radicais livres a custa de reações de auto-oxidação. O antioxidante inibidor de radicais livres reage com os mesmos dando origem ao radical In., o qual não possui reatividade suficiente para desencadear novamente a reação de auto-oxidação (reações 3 e 4).

Desta forma, o radical antioxidante In. recombina-se ou reage com outro radical livre. Em alguns casos o radical R. pode ser novamente formado (reação 5) e iniciar uma nova reação em cadeia. Para que a inibição ocorra é importante que a velocidade da reação 4 seja significativamente maior do que aquela apresentada pela reação 2, pois, nesta situação a ligação In-H pode ser mais facilmente quebrada do que a ligação R-H. Entretanto, existem outros fatores que podem alterar a eficácia do agente oxidante, tais como a desintegração deste a custa do próprio oxigênio do meio, conforme pode ser facilmente demonstrado através da reação 6, ou por peróxidos, vistos na reação 7. Na presença de um excesso de antioxidante, tem-se a predominância desta reação, obtendo-se um efeito inverso.

Analisando os mecanismos das reações em cadeia de auto-oxidação, torna-se claro que o processo oxidativo pode ocorrer em diferentes passos. Sendo assim, para se ter sucesso na inibição da oxidação de fármacos contidos em preparações farmacêuticas, é importante considerar a quantidade do agente antioxidante a ser adicionado, bem como o(s) tipo(s) de substância(s) dotada(s) de tais propriedades. Os antioxidantes devem ser efetivos em pequenas concentrações, geralmente de 0,05 a 0,1%. Estas concentrações podem ser alteradas, dentro de níveis considerados ideais, pois caso contrário, poderá ocorrer um efeito inverso. É importante também, trabalhar com

associações de antioxidantes que atuem por mecanismos diferentes, inibindo assim os diferentes passos das reações de oxidação.

As preparações farmacêuticas injetáveis contendo cloridrato de prometazina, encontradas comercialmente, apresentam duas ou três substâncias antioxidantes diferentes, sendo os mais comuns os sais sódicos do metabissulfito e do bissulfito e o ácido ascórbico (53, 82). A partir desse fato, as amostras simuladas de injetáveis foram formuladas contendo esses antioxidantes, isolados ou em associações, objetivando verificar a capacidade de proteção, preservando desta maneira o cloridrato de prometazina. Tabela 1.

A escolha dos referidos antioxidantes está fundamentada em bases sólidas e racionais, uma vez que atuam por mecanismos diferentes (potencializam o efeito antioxidante), são estáveis em pH ácido, onde o cloridrato de prometazina está na forma protonizada, e, portanto mais estável, e ainda são compatíveis com a via de administração parenteral.

As reações de oxidação podem ser inibidas por (15):

- a) Agentes quelantes, tais como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA), o ácido cítrico, o ácido fosfórico e o ácido tartárico. Estas substâncias em presença

de íons metálicos (Fe^{+3} , Cu^{+2} , Co^{+3} , Ni^{+2} , Mn^{+3}) formam complexos evitando a ação direta desses íons no processo de oxidação.

- b) Agentes redutores, tais como o tiosulfato de sódio e o ácido ascórbico, os quais reduzem as formas oxidadas dos fármacos.
- c) Substâncias que se oxidam mais facilmente do que o fármaco a proteger, atuando como varredores de oxigênio, tais como os sais sódicos do metabissulfito, do bissulfito e do sulfito, além do tioglicerol, dos ácidos ascórbico, isoascórbico e tioglicólico, cloridrato de cisteína, etc, pois apresentam menor potencial redox.
- d) Terminadores de cadeia, que formam radicais estáveis e incapazes de continuar a propagação das reações. Neste grupo encontram-se os antioxidantes lipossolúveis que atuam preferencialmente por este mecanismo. Por outro lado, os antioxidantes hidrossolúveis, como cloridrato de cisteína, tioglicerol, ácido tioglicólico e tiosorbitol, atuam de maneira similar em razão da presença de grupamentos sulfidrilas.

Como em qualquer estudo de estabilidade, é necessário padronizar um método analítico para quantificar a concentração remanescente do fármaco em questão, durante a exposição à condições drásticas.

O cloridrato de prometazina em ácido clorídrico 0,01M, apresenta um espectro de absorção característico na região do ultravioleta, com pico de absorção a 248nm (13), conforme pode ser visto na Figura 3.

Para a elaboração da curva padrão de calibração, foram preparadas diluições, em triplicatas, representativas das concentrações pré-determinadas, cujos resultados evidenciaram ótima correlação linear ($r = 0,9993$) entre os valores das absorbâncias determinadas e as respectivas concentrações de cloridrato de prometazina, a 248nm.

Para verificar a possível interferência dos adjuvantes utilizados nas amostras simuladas, os mesmos foram preparados em concentrações similares às formulações e sujeitos à análise pelo método proposto. Observou-se que essas substâncias adjuvantes não interferiram com o pico de absorção do fármaco, a 248nm.

Com relação ao sulfóxido de prometazina, um dos produtos de decomposição do fármaco em questão, resultado semelhante foi obtido após a aplicação do método espectrofotométrico, conforme pode ser visualizado na Figura 4.

Vários fatores podem atuar sobre a estabilidade de um medicamento. A degradação química de fármacos consome energia e pode ser facilitada com o uso de calor, fato este em que se baseia a maioria dos testes de degradação acelerada. Os resultados obtidos podem ser extrapolados a valores normais, e assim obter, em um espaço de tempo relativamente curto, dados sobre a estabilidade do fármaco sob condições normais de armazenagem (62, 63, 81).

Muitas reações de degradação de fármacos ocorrem em velocidades definidas e são de natureza química. A ordem da reação pode ser descrita pela maneira na qual a velocidade de reação depende da concentração dos reagentes, podendo ser classificada como zero ordem, primeira ordem ou pseudo-primeira ordem, ou ainda, de ordens superiores ou complexas.

A relação quantitativa da velocidade de reação e a temperatura é dada pela equação de Arrhenius:

$$k = Ae^{-E_a/RT}$$

onde k é a constante de velocidade de qualquer ordem; T é a temperatura em graus Kelvin; R é a constante dos gases; A é uma constante associada com a entropia da reação e/ou fatores de colisão; e E_a é a energia de ativação.

Esta equação também pode ser empregada em sua forma logarítmica:

$$\log k = \log A - E_a/2,303.R.T$$

ou

$$\log \frac{k_2}{k_1} = \frac{-E_a}{2,303.R} \cdot \left(\frac{1}{T_2} - \frac{1}{T_1} \right)$$

onde k_1 e k_2 são as constantes de velocidade nas temperaturas T_1 e T_2 , respectivamente. Os valores de $\log k$ colocados contra a recíproca das temperaturas absolutas originarão um gráfico de Arrhenius onde a inclinação é $-E_a/2,303.R$.

Com o objetivo de aumentar a confiabilidade dos resultados obtidos, em estudos de estabilidade acelerado, pode-se usar um número maior de temperaturas testes. Comumente é ensaiada uma temperatura bem próxima da ambiente, um número de pares $\log t_{90}$ e $1/T$ entre 8 a 12 e ainda conduzir o experimento de modo a permitir uma degradação no mínimo de 20% (1).

As amostras simuladas contendo cloridrato de prometazina foram submetidos ao teste de estabilidade acelerado por exposição às temperaturas de 37°C, 50°C e 70°C, com o objetivo de acelerar a velocidade de oxidação desse fenotiazínico em solução aquosa.

Analisando os resultados de teor percentual de cloridrato de prometazina, obtidos por aplicação do método espectrofotométrico, observou-se que a degradação a 37°C do cloridrato de prometazina nas amostras simuladas 1, 2, 3, 5 e 6 não excedeu 10% em 84 dias de experimento. Um comportamento diferente foi verificado com relação às amostras simuladas 4, 7 e 8, as quais obtiveram uma degradação mais acentuada chegando a quase 50%, como no caso da amostra 8.

A temperatura de 50°C, as amostras 1, 2 e 3 sofreram decomposição na ordem de 10% a 13% após 84 dias de

exposição. As amostras 5, 6 e 7 apresentaram degradação de 18%, 20% e 23%, respectivamente. Por outro lado, as amostras 4 e 8 degradaram-se de maneira bastante pronunciada, ou seja, 76% e 64% respectivamente.

A degradação do cloridrato de prometazina a 70°C, foi acentuada em todas as amostras, mas as de número 4 e 8 exibiram valores de degradação em torno de 94% durante os 84 dias de experimento.

Para cada amostra e em cada temperatura do experimento observou-se curvatura na relação concentração de cloridrato de prometazina X tempo e linearidade no gráfico log concentração de cloridrato de prometazina X tempo, conforme indicam as Figuras 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 e 11. Através disso, atribuiu-se a ordem da reação de decomposição do cloridrato de prometazina como sendo de primeira ordem.

As constantes de velocidade (k) para todas as amostras nas temperaturas de 37°C, 50°C e 70°C foram calculadas a partir dos valores de teor percentual obtidos pelo método espectrofotométrico, segundo a equação de primeira ordem. Analisando-se os valores obtidos para k, pode-se constatar que o aumento da temperatura acelerou a oxidação do cloridrato de prometazina nas formulações de injetáveis objeto de estudo.

O prazo de validade (t_{90} a 25°C) de cada amostra foi obtido tanto pelo método algébrico como pelo método gráfico. Através dos valores fornecidos pela equação das retas foram determinados os valores de k a 25°C , os quais foram utilizados para calcular o prazo de validade das amostras simuladas, obedecida a equação abaixo

$$t_{90} = \frac{0,105}{k}$$

Para estabelecimento do método algébrico foi empregada a equação de Arrhenius. Para tanto os valores de k a 25°C para todas as amostras simuladas foram obtidos relacionando-se temperaturas pares, ou seja, 37°C e 70°C , 37°C e 50°C e 50°C e 70°C . Os valores de k a 25°C que mais se aproximaram do método gráfico, foram os obtidos quando da aplicação da relação de Arrhenius entre as temperaturas 37°C e 70°C . Esses valores foram utilizados para calcular a t_{90} a 25°C , mostrando que a amostra 1, a qual contém três substâncias antioxidantes permaneceu estável por cerca de 410 dias.

As amostras 2 e 3 contendo ácido ascórbico e bissulfito ou metabissulfito de potássio com antioxidantes apresentaram um prazo de validade inferior, ou seja, cerca de 312 dias.

Para a amostra 5 o prazo de validade diminuiu um mês quando comparados com as amostras 2 e 3, que também continham duas substâncias antioxidantes nas suas formulações. Tal comportamento pode ser justificado pelo fato que os dois antioxidantes presentes na amostra 5 atuam pelo mesmo mecanismo (varredores de oxigênio), enquanto que, nas amostras 2 e 3 o ácido ascórbico estaria potencializando o efeito antioxidante do bissulfito ou metabissulfito de potássio, por também atuar como agente redutor.

As amostras 6 e 7 possuíam somente um antioxidante, ou seja, o bissulfito e metabissulfito de potássio, respectivamente. A diferença da t_{90} a 25°C para estas duas amostras não foi tão acentuada, devido serem antioxidantes que atuam por mecanismos semelhantes, e, encontram-se em concentrações iguais. No entanto, quando se compara o prazo de validade da amostra 4, que também possui um único antioxidante (ácido ascórbico) com os da amostra 6 e 7, observa-se uma grande diferença. A amostra 4 mostrou um prazo de validade aproximado de 42 dias, cerca de seis vezes menor que as amostras 6 e 7. Tal fato sugere que o ácido ascórbico na concentração de 0,2%, não foi muito efetivo como agente estabilizante único das amostras simuladas.

Um comportamento semelhante foi verificado por UNDERBERG et al (80) quando avaliaram a influência da hidroquinona, do pirossulfito de sódio e do ácido ascórbico no processo de oxidação do cloridrato de prometazina em solução aquosa. Esses autores verificaram uma certa estabilização com o emprego do ácido ascórbico, mas na maioria das vezes, o comportamento foi contrário ao do esperado. O ácido ascórbico é uma substância altamente instável, principalmente em valores baixos de pH (43). Pelo seu próprio mecanismo de ação antioxidante, esta substância sofre degradação dando origem a radicais livres, os quais poderiam estar interferindo na degradação do cloridrato de prometazina. Esta característica do ácido ascórbico pode também justificar o fato de que a amostra 4 apresentou um prazo de validade bem semelhante com a amostra 8, o qual não continha substância antioxidante na sua formulação.

Através da cromatografia em camada delgada foi possível acompanhar a degradação do cloridrato de prometazina nas amostras simuladas, permitindo visualizar a presença de três produtos de decomposição. Um desses produtos pôde ser identificados como o sulfóxido de prometazina, pois comparativamente apresentou R_f semelhante ao sulfóxido de prometazina obtido mediante síntese.

No cromatograma da amostra 1 verificou-se que a 37°C só foi possível detectar o sulfóxido de prometazina como produto de degradação. No entanto, houve também o aparecimento da mancha IV a partir de 56 e 42 dias de experimento para as temperaturas de 50°C e 70°C, respectivamente. A degradação mais pronunciada foi verificada nas amostras 4 e 8. Os três produtos de degradação referentes a mancha II (identificado como sulfóxido de prometazina), III e IV foram detectados nas temperaturas de 37°C, 50°C e 70°C, sendo que para esta última o tamanho e intensidade de cor das manchas foram maiores.

Os resultados dos experimentos realizados, a custa de métodos de cinética de decomposição, apresentaram-se de conformidade com os dados até agora relatados da literatura (36, 73, 79 e 80).

Os adjuvantes, como por exemplo os antioxidantes, interferem na estabilidade de princípios ativos contidos em preparações farmacêuticas. Variações na composição e na concentração dos componentes podem ser marcantes na estabilização de tais formulações. Através disso, os estudos de estabilidade de preparações contendo diferentes excipientes e adjuvantes é de grande valia para o desenvolvimento de produtos farmacêuticos de qualidade.

7. CONCLUSÕES

Através dos resultados experimentais obtidos nas condições propostas, pode-se concluir que:

- 1) O cloridrato de prometazina degradou-se em preparações farmacêuticas injetáveis, seguindo reações de cinética de primeira ordem.
- 2) A temperatura acelerou o processo oxidativo do cloridrato de prometazina.
- 3) A técnica de cromatografia em camada delgada mostrou-se efetiva na separação e visualização dos produtos de degradação do cloridrato de prometazina nas preparações injetáveis.
- 4) O sulfóxido de prometazina, bem como os agentes oxidantes contidos nas amostras simuladas não interferiram na análise do cloridrato de prometazina pelo método espectrofotométrico.
- 5) O tipo de agente antioxidante e associações destes interferiram na estabilidade do cloridrato de prometazina em preparações farmacêuticas injetáveis.

6) A associação ácido ascórbico, metabissulfito e bissulfito de potássio a 0,2%, 0,1%, respectivamente, mostrou-se efetiva, enquanto que o ácido ascórbico isolado, na concentração de 0,2%, não evidenciou bons resultados em termos de proteção antioxidante.

7) Em razão dos resultados conseguidos, propomos a associação de antioxidantes referida anteriormente, pois a mesma sustentou estabilidade com prazo de validade de 410 dias, quando utilizada em formulações injetáveis.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

01. AMIRJAHED, A. K. Simplified method to study stability of pharmaceutical preparations. J. pharm. Sci., Washington, v.66, n.6, p.785-8, 1977.
02. ATTWOOD, D.; FLORENCE, A. T.; GILLAN, J. M. N. Micellar properties of drugs: properties of micellar aggregates of phenothiazines and their aqueous solutions. J. pharm. Sci. Washington, v.63, n.6, p.988-93, 1974.
03. BAKER, J. K.; SKELTON, R. E.; MA, C. Y. Identification of drugs by high-pressure liquid chromatography with dual wavelength ultraviolet detection. J. Chromatogr., Amsterdam, v.168, n.2, p.417-27, 1975.

04. BALDESSARINI, R. J. Drugs and the treatment of psychiatric disorders. In: GILMAN, A. G.; RALL, T. W.; NIES, A. S.; TAYLOR, P. The pharmacological basis of therapeutics. 8.ed. New York, Pergamon Press, 1990. Cap.18, p.383-435.
05. BELTAGY, Y. A.; ISSA, A. S.; MAHROUS, M. S. Pharmaceutical analysis of some tranquillizers and antidepressants with iodine monochloride. Talanta, London, v.25, n.6, p.349-51, 1978.
06. BENTLEY, D. L. Statistical techniques in predicting thermal stability. J. pharm. Sci., Washington, v.59, n.4, p.464-8, 1970.
07. BEYRICH, T. H.; ZYWICA, W.; KOTTKE, D.; KEMNA, B.; THIELE, W. Beiträge zur Problematik des Einsatzes von Kunststoffbehältern für flüssige Arzneibereitungen Pharmazie, Berlin, v.29, n.8, p.517-20, 1974.
08. BLAŽER, J.; DYMĚŠ, A.; STEJSKAL, Z. Analytik der Phenothiazinderivate. 3. Übersicht. Pharmazie, Berlin, v.31, n.10, p.681-703, 1976.

09. BLAŽER, J.; STEJSKAL, Z. Nachweis und Bestimmung von Phenothiazinderivaten in biologischem Material. Pharmazie, Berlin, v.27, n.8, p.506-8, 1972.
10. BORNSCHEIN, I.; WUNSCHMANN, H.; PFEIFEIR, S. Zersetzungsprodukte des Promethazins. Pharmazie, Berlin, v.27, n.3, p.188-9, 1972.
11. BRITISH pharmacopoeia. London, Her Majesty's Stationery Office, 1980. v.1, p.372.
12. BRITISH pharmacopoeia. London, Her Majesty's Stationery Office, 1988. v.1, p.470.
13. BRITISH pharmacopoeia. London, Her Majesty's Stationery Office, 1988. v.2, p.749-843, 995.
14. CONNORS, K. A.; AMIDON, G. L.; KENNON, L. Chemical stability of pharmaceuticals a handbook for pharmacist. New York, Wiley - Interscience, 1979. p.86-95.

15. CONNORS, K. A.; AMIDON, G. L.; STELLA, V. J. Chemical stability of pharmaceuticals. 2. ed. New York, Wiley - Interscience, 1986. p.82-114; 704-13.
16. COX, N.; MEAKIN, B. J.; DAVIES, D. J. G. The influence of some antioxidants on the photochemical decomposition kinetics of promethazine hydrochloride. J. Pharm. Pharmacol., London, v.28, 45p., 1976. Supplement.
17. CROCE, C. P.; FISHER, A.; THOMAS, R. H. Packaging materials science. In: LACKMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. The theory and practice of industrial pharmacy. 3. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1986. Cap.24, p.711-32.
18. DAVIDSON, A. G. The determination of phenothiazine drugs in pharmaceutical preparations by a difference spectrophotometric method. J. Pharm. Pharmacol., London, v.28, n.11, p.795-800, 1976.
19. DAVIDSON, A. G. The determination of phenothiazine sulphoxides in degraded phenothiazine formulations. J. Pharm. Pharmacol., London, v.29, 13p, 1977. Supplement.

20. DAVIDSON, A. G. The determination of sulfoxide in degraded phenothiazine formulations by difference spectrophotometry. J. Pharm. Pharmacol., London, v.30, n.7, p.410-4, 1978.
21. DE LEENHEER, A. Thin-layer chromatography of phenothiazine derivatives and analogues. J. Chromatogr., Amsterdam, v.75, p.79-86, 1973.
22. DEUTSCHES Arzneibuch, Stuttgart, Deutscher Apotheker Verlag, 1986. p.1211-2.
23. DICIONÁRIO de especialidades farmacêuticas, 20. ed. Rio de Janeiro, Editora de Publicações Médicas, 1991/92.
24. DUMORTIER, A. G.; PATRIACHE, G. J. Polarographic determination of phenothiazine and N-substituted compounds. Fresenius Z. anal. Chem., Wiesbaden, v.264, n.2, p.153-8, 1973.
25. EUROPEAN Pharmacopoeia. Paris, Maisonneuve, 1975, v.3, p.332-34.

26. FARMACOPEA Internacional. 3. ed. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1989. v.3, p.274-76.
27. FELL, A. F.; DAVIDSON, A. G. The determination of sulphoxide in degraded chlorpromazine formulations by second derivative UV-spectrophotometry. J. Pharm. Pharmacol., London, v.32, 97p, 1980. Supplement.
28. FELMEISTER, A.; DISHER, C. A. Photodegradation of chlorpromazine hydrochloride. J. pharm. Sci., Washington, v.53, n.7, p.756-62, 1964.
29. FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. Physicochemical principles of pharmacy. 2. ed., London, Macmillan Press, 1988. Cap.4, p.81-129: Chemical stability of drugs.
30. FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. Physicochemical principles of pharmacy. 2. ed., London, Macmillan Press, 1988. Cap.6, p.173-227: Surfactants.

31. GARRET, E. R. Prediction of stability of drugs and pharmaceutical preparations. J. pharm. Sci., Washington, v.51, n.9, p.811-31, 1962.
32. GARRISON, J. C. Histamine, bradykinin, 5-hidroxitryptamine, and their antagonists. In: GILMAN, A. G.; RALL, T. W.; NIES, A. S.; TAYLOR, P. The pharmacological basis of therapeutics. 8. ed. New York, Pergamon Press, 1990. Cap.23, p. 575-99.
33. GASCO, M. R.; CARLOTTI, M. E. Kinetics and mechanism of oxidation of dimetacrine, imipramine and phenothiazine drugs. Pharm. Acta helv., Zurich, v.52, n.12, p.296-301, 1977.
34. GREEN, A. L. Ionization constants and water solubilities of some aminoalkylphenothiazine tranquilizers and related compounds. J. Pharm. Pharmacol., London, v.19, n.11, p.10-6, 1967.

35. GRUSZ-HARDAY, E. Dünnschichtchromatographischer Nachweis von Phenothiazinen. Pharmazie, Berlin, v.26, n.9, p.562-3, 1971.
36. HACKMANN, E. R. M.; MAGALHÃES, J. F.; SANTORO, M. I. R. M. Estabilidade da levomepromazina em formulações farmacêuticas. Rev. bras. Farm., Rio de Janeiro, v.67, n.4, p.135-42, 1986.
37. HACKMANN, E. R. M.; MAGALHÃES, J. F.; SANTORO, M. I. R. M.; MARTINS, J. L. S. Estudo da decomposição da solução de prometazina acondicionada em frascos de vidro. An. Farm. Quím., São Paulo, v.23, n.1/2, p.7-10, 1983.
38. HACKMANN, E. R. M.; MAGALHÃES, J. F.; SANTORO, M. I. R. M.; MARTINS, J. L. S. Doseamento do cloridrato de prometazina em medicamentos. Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo, São Paulo, v.19, n.2, p.79-81, 1983.

39. HACKMANN, E. R. M.; SANTORO, M. I. R. M.; MAGALHÃES, J. F.; MARTINS, J. L. S. Diazotized sulfanilic acid as novel reagent for the detection of phenothiazine, phenothiazine-like drugs and their decomposition products in pharmaceuticals. Pharmazie, Berlin, v.39, n.10, p.718, 1984.
40. HELOU, J. H. Acondicionamento de medicamentos. In: HELOU, J. H.; CIMINO, J. S.; DAFFRE, C. Farmacotécnica, São Paulo, Artpress, 1975. Cap. 8, p.111-25.
41. HUANG, C. L.; SANDS, F. L. Effect of ultraviolet irradiation on chlorpromazine. II:Anaerobic condition. J. pharm. Sci., Washington, v.56, n.2, p.259-64, 1967.
42. HUANG, C. L.; SANDS, F. L. The effect of ultraviolet irradiation on chlorpromazine. I:Aerobic condition. J. Chromatog. Amsterdam, v.13, p.246-9, 1964.
43. KASSEM, M. A.; KASSEM, A. A.; AMMAR, H. O. Studies on the stability of infectable L-ascorbic acid solutions. Pharm. Acta helv. Zurich, v.44, n.12, p.611-23, 1969.

44. KOFOED, J.; FABIERKIEWICZ; LUCAS, G. H. W. A study of the conversion of phenothiazine derivatives to the corresponding sulfoxides on thin-layer plates. J. Chromatog., Amsterdam, v.23, p.410-6, 1966.
45. KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. H. Química farmacêutica. Rio de Janeiro, Guanabara Dois, 1982. Cap. 20, p.347-61: Histamina e agentes anti-histamínicos.
46. KRÁČMAR, J. Ultraviolet - Spektrophotometrie und ihre Anwendung zur Werbestimmung pharmazeutisch wichtiger Verbindungen. Pharmazie, Berlin, v.16, n.7, p.341-50, 1961.
47. KREYENBUHL, B.; JOSHI, R. K.; PERLIA, X. Dünnschichtchromatographie einiger N-10-substituierter Phenothiazinderivate. Pharm. Acta. helv., Zurich, v.53, n.9/10, p.273-6, 1978.
48. KROSS, W.; ROTH, H. Entwicklung einer haltbarkeitsspezifischen Bestimmungsmethod für Phenothiazine. Pharm. Ztg., Frankfurt am Main, v.121, p.1831-6, 1976.

49. LACHMAN, L. Antioxidants and chelating agents as stabilizers in liquid dosage forms. Drug cosmet. Ind., New York, v.1, n.1, p.36-8; 40; 146-8, 1968.
50. LACHMAN, L.; DeLUCA, P.; AKERS, M. J. Kinetic principles and stability testing. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.; KANIG, J. L. The theory and practice of industrial pharmacy. 3. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1986. Cap. 26, p.760-803.
51. LORDI, N. G; SCOTT, M. W. Stability charts: design and application to accelerated stability testing of pharmaceuticals. J. pharm. Sci., Washington, v.54, n.4, p.531-7, 1965.
52. MARTIN, A. N.; WARBRICH, J. S.; CAMMARATA, A. Physical pharmacy. 2. ed. Philadelphia, Lea & Febiger, 1969. Cap. 14, p.354-412: Kinetics and biopharmaceutics.
53. MARTINDALE, W. H. The Extra pharmacopoeia, 29^a ed. London, Pharmaceutical Press, 1989. p.443-44; 459-60.

54. MATSUI, F.; FRENCH, W. N. Analysis of binary mixtures of pharmaceutical amines by the acid dye technique. J. pharm. Sci., Washington, v.60, n.2, p.287-91, 1971.

55. MEAKIN, B. J.; DAVIES, D. J. G.; COX, N.; STEVENS, J. Chromatographic determination of promethazine hydrochloride in aqueous solution. Analyst., London, v.101, n.1206, p.720-7, 1976.

56. MEAKIN, B. J.; STEVENS, J.; DAVIES, D. J. G. The effect of drug concentration on the thermal (dark) degradation of promethazine hydrochloride in aqueous solution. J. Pharm. Pharmacol., London, v.33, n.2, p.75-80, 1978.

57. MERCK. Reativos de coloracion para cromatografia em capa fina y em papel. Darmstadt. p.24.

58. MOLLICA, J. A.; AHUJA, S.; COHEN, J. Stability of pharmaceuticals. J. pharm. Sci., Washington, v.67, n.4, p.443-65, 1978.

59. NYBERG, L. Selective determinations of amines and quaternary ammonium compounds as ion pairs with methyl orange by an automated method applicable to single dose analysis. J. Pharm. Pharmacol., London, v.22, p.500-6, 1970.
60. PATON, D. M.; WEBSTER, D. R. Clinical pharmacokinetics of H₁-receptor antagonists (the antihistamines). Clinical Pharmacokinet. Balgowlah, v.10, n.6, p.477-97, 1985.
61. PHARMACOPEE Française. 8. ed. Paris. La Commission Permanente de la Pharmacopée, 1965. p.900-2.
62. PHARMACOPOEIA of Japan. 10. ed. (English Version) Tokyo, Society of Japanese Pharmacopoeia, 1982. p.541-43.
63. PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. Técnica farmacêutica e farmácia galênica. 2. ed., Lisboa, Calouste - Gulbenkian, 1979,. v.3, Cap. 15, p.2465-2510: Estabilidade dos medicamentos.

64. RHÔNE - POULENC. Promethazine chlorydrate Qualité pharmaceutique - Norme de qualite. ST/C.R.V./An. n^o. 5331, p.1-11, 1985.
65. RIGAMONTI, S. Stabilita' delle soluzioni iniettabili di vitamina B₁ in presenza di antiossidanti. Boll. chim. farm., Milano, v.103, n.5, p.358-67, 1964.
66. ROSEBOOM, H.; FRESEN, J. A. Oxidative degradation of phenothiazine. Part I: Identification of some degradation products of phenothiazine. Pharm. Acta helv., Zurich, v.50, n.3, p.55-9, 1975.
67. SAMIE, M. A.; AMMAR, H. O.; MATHA, A. G.; EL NAHHAS, S. A.; KASSEN, M. A. Interaction of phenothiazines with caffeine Part II: Effect of complexation with caffeine on the stability and in-vitro transport of phenothiazines. Pharm. Acta helv., Zurich, v.58, n.1, p.28-32, 1983.

68. SANTORO, M. I. R. M.; HACMANN, E. R. M.; STORPIRTIS, S.
Determinação de prometazina e clorpromazina em soluções
injetáveis por cromatografia líquida de alto desempenho.
Rev. Farm. Bioquim. Univ. São Paulo. São Paulo, v.24,
n.2, p.87-94, 1988.
69. SHARMA, L. R.; BANSAL, P. C.; KALIA, R. K.; MANCHANDA, A. K.
Voltammetric determination of pharmaceuticals at the
tubular graphite electrode. Analyst, London, v.105,
n.1253, p.779-86, 1980.
70. SHARPLES, D. Photodecomposition of some substituted
phenothiazines. J. Pharm. Pharmacol., London, v.33, n.4,
p.242-3, 1981.
71. SMITH, D. J. Ion exchange method for the separation and
spectrophotometric determination of some sympathomimetic
amines, antihistamines, and phenothiazines in
pharmaceuticals. J. Assoc. off. anal. Chem., Washington,
v.55, n.3, p.596-609, 1972.

72. STAN, M.; DORNEANN, V.; GHIMICESCU, G. H. Phosphomolybdic acid as reagent for the spectrophotometric determination of certain phenothiazine derivatives of pharmaceutical products. Talanta, London, v.24, n.2, p.140-2, 1977.
73. STAVCHANSKY, S.; WALLAGE, J. E.; WU, P. Thermal and photolytic degradation studies of promethazine hydrochloride: A stability - indicating assay. J. pharm. Sci., Washington, v.72, n.5, p.546-8, 1983.
74. TARASIEWICZ, M. Determination of phenothiazine derivatives. 5. The application of iron - thiocyanate complexes for colorimetric determination of chlorpromazine, levomepromazine and promethazine. Acta Pol. pharm., Warszawa, v.29, n.6, p.578-84, 1972.
75. THE MERCK index. 17. ed., Rahway, 1989, p.1237.
76. The UNITED States pharmacopoeia. 21. ed. Rockville, V. S. Pharmacopoeial Convention, 1985. p.892-93.

77. The UNITED States pharmacopoeia. 22. ed. Rockville, V. S. Pharmacopeial Convention, 1990.
78. UNDERBERG, W. J. M. Oxidative degradation of pharmaceutically important phenotiazines I: Isolation and identification of oxidation products of promethazine. J. pharm. Sci., Washington, v.67, n.8, p.1128-31, 1978.
79. UNDERBERG, W. J. M. Oxidative degradation of pharmaceutically important phenotiazines II: Quantitative determination of promethazine and some degradation products. J. pharm. Sci., Washington, v.67, n.8, p.1131-4, 1978.
80. UNDERBERG, W. J. M. Oxidative degradation of pharmaceutically important phenotiazines III: Kinetics and mechanism of promethazine oxidation. J. pharm. Sci., Washington, v.67, n.8, p.1134-8, 1978.
81. VADAS, E. B. Stability of pharmaceutical products. In: GENNARO, A. R., Ed., Remington's pharmaceutical Science, 18.ed., Easton, Mack, 1990. Cap. 81, p.1504-12.

82. VAN DYKE, K. Histamina e anti-histamínicos. In: GRAIG, C. R.; STITZEL, R. E. Farmacologia Moderna., São Paulo, Roca, 1986. Cap. 67, p.874-84.
83. WALLACE, J. E.; BIGGS, J. D. Determination of phenothiazine compounds in biologic specimens by UV spectrophotometry. J. pharm. Sci., Washington, v.60, n.9, p.1346-50, 1971.
84. WALTERSSON, J. O.; LUDGREN, P. Nonisothermal kinetics applied to pharmaceuticals. Acta pharm. Suec., Stockolmon, v.19, n.2, p.127-36, 1982.
85. WARREN, R. J.; EISDORFER, I. B.; THOMPSON, W. E.; ZAREMBRO, J. E. Spectra-structure correlations of phenothiazines by infrared, ultraviolet and nuclear magnetic resonance spectroscopy. J. pharm. Sci., Washington, v.55, n.2, p.144-50, 1966.
86. WORLD HEALTH ORGANIZATION Accelerated stability studies of widely used pharmaceutical substances undes simulated tropical conditions. WHO/PHARM/86.529. 1986, p.1-3; 94.

9. RESUMO

O cloridrato de prometazina constitui um potente anti-histamínico, pertencente ao grupo das fenotiazinas, é comercializado sob várias formas farmacêuticas, isolado ou associado a outros fármacos. A decomposição oxidativa do cloridrato de prometazina é relativamente intensa em meio aquoso.

No presente trabalho verificou-se a estabilidade do cloridrato de prometazina em preparações farmacêuticas injetáveis, contendo diferentes associações de agentes antioxidantes, aplicando-se como método de análise a espectrofotometria no ultravioleta. Pela cromatografia em camada delgada foi possível separar e identificar o produto de degradação, o sulfóxido de prometazina. Armazenaram-se as diferentes formulações foram armazenadas em estufas termostatizadas de 37°C, 50°C e 70°C por um período de 84 dias. Em intervalos de tempos pré-estabelecidos, analisaram-se as amostras quanto ao conteúdo de cloridrato de prometazina pela metodologia analítica proposta. Através dos resultados experimentais avaliou-se a cinética de decomposição do cloridrato de prometazina, e determinaram-se os prazos de validade (t_{90} a 25°C) para cada formulação. Selecionou-se o sistema antioxidante mais efetivo.

10. SUMMARY

Promethazine hydrochloride constitutes a strong antihistamine, that belongs to the phenothiazine group, is commercialized under pharmaceutical dosage forms, being isolated or associated to other drugs. The oxidative decomposition of promethazine hydrochloride is relatively intense in aqueous solution.

In the present investigation, the stability of injectable promethazine hydrochloride, containing different associations of antioxidants, was evaluated. The spectrophotometric method was applied in the analyses. By means of thin layer chromatography was possible to separate and identify the sulfoxide of promethazine. Different formulations were stored in thermostatted incubators at 37°C, 50°C and 70°C for a period of 84 days, and assayed at appropriate intervals. Through the experimental results, the thermal decomposition kinetic of promethazine hydrochloride was evaluated, and the expiration date (t_{90} at 25°C) for each formulation was determined. The most effective antioxidant system was selected.