

AVALIAÇÃO ELETROANALÍTICA DA METILDOPA EM ELETRODO DE CARBONO VÍTREO

*Eric de Souza Gil¹
Fernando Miguel de Amorim Lino²
Flávio Colmati Junior³*

RESUMO: Vários métodos, i.e. colorimétricos e cromatográficos, têm sido empregados para a identificação e quantificação da metildopa em formulações farmacêuticas, bem como em amostras de interesse clínico, que em geral apresentam elevado tempo de análise e consumo de reagente. Deste modo, muito esforço tem sido voltado para o desenvolvimento de procedimentos analíticos simples, rápidos, precisos e de baixo custo. Neste contexto, pretende-se avaliar o comportamento eletroquímico da metildopa com objetivos analíticos e químico-farmacêuticos, já que mecanismos redox estão provavelmente associados ao processo de descarboxilação e ação da metildopa no tecido nervoso. O comportamento redox da metildopa foi avaliado por voltametria cíclica, variando-se diferentes parâmetros (faixa de varredura de potencial ou potencial de inversão e velocidade de varredura), bem como características do eletrólito suporte (pH, concentração, sal) e eletrodo de trabalho (Pasta de Carbono, Carbono vítreo e Pt).

PALAVRAS-CHAVE: Metildopa. Eletrólitos. Caracterização Eletroquímica

EVALUATION OF ELECTROANALYTICAL OF METHYLDOPA ON A GLASSY CARBON ELECTRODE

ABSTRACT: Several methods, eg colorimetric and chromatographic methods have been used for the identification and quantification of methyldopa in pharmaceutical formulations, as well as in samples of clinical interest, which typically have high analysis time and reagent consumption. Thus, much effort has been directed towards the development of analytical procedures simple, fast, accurate and low cost. In this context, we intend to evaluate the electrochemical behavior of methyldopa with analytical purposes and chemical-pharmaceutical products, since redox mechanisms are probably involved in the process of decarboxylation and action of methyldopa in nervous tissue. The redox behavior of methyldopa was evaluated by cyclic voltammetry, varying different parameters (Scanning Range of Potential or Reversal Potential and Scan Rate), as well as characteristics of the supporting electrolyte (pH, Salt) and working electrode (Carbon Paste, Glassy Carbon and Pt).

KEYWORDS: Methyldopa. Electrolytes. Electrochemical Characterization.

¹ Docente/Pesquisador orientador. Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia, Departamento de Análise farmacêutica e Ambiental, CEP 74001-970, Goiânia, Goiás, Brasil. E-mail: ericsgil@gmail.com.

² Acadêmico Graduando. Universidade Federal de Goiás, Faculdade de Farmácia.

³ Docente/Pesquisador orientador. Universidade Federal de Goiás, Instituto de Química.

1 INTRODUÇÃO

Metildopa, α -metil-3,4-dihidroxi-fenilamina, é um pró-fármaco catecolamínico (Figura 1), comumente utilizado como agente anti-hipertensivo em quadros clínicos de hipertensão arterial. Trata-se de um agonista central com atividade sobre o receptor α_2 -adrenérgico, que atua portanto reduzindo o tônus simpático e consequentemente a pressão sanguínea (Ribeiro; Piezza; Pieza,2005,p.23).

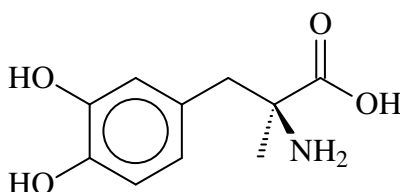


Figura 1 - Fórmula estrutural da α -metildopa.

Fonte: Autores,(2011);

Seu uso é considerado relativamente seguro durante a gestação, sendo classificado segundo a FDA de risco B, sendo portanto opção terapêutica de escolha indicada a gestantes ⁽¹⁾. Entretanto, apesar de ser bastante tolerável, a α -metildopa quando ingerida em doses elevadas pode contribuir para diversos efeitos adversos como, por exemplo, cefaleia, fadiga, perda da libido e dificuldade para ejacular, como também, depressão, confusão mental, alterações do aprendizado, danos ao fígado, danos ao pâncreas e Parkinsonismo de origem medicamentosa. Logo, cuidados especiais devem ser tomados, especialmente durante a amamentação, pois a sua presença no leite materno pode trazer problemas ao recém-nascido(Ribeiro; Piezza; Pieza,2005,p.23).

A metildopa, é precursor da dopamina, a qual é indicada no controle dos sintomas da Doença de Parkinson. Outro exemplo de pró-fármaco catecolaminérgico, a L-Dopa (precursor da norepinefrina) tem sido indicada na correção de distúrbios hemodinâmicos em estados de choque (Vieira;Fatibello-Filho,1998,p.559)(Oliveira; Neves; Vieira, 2008, p.424).

Em comum, todos fármacos catecolamínicos atuam directamente no sistema nervoso alterando conduções sinápticas, e são biosintetizados e metabolizados

principalmente via reacções redox (Aafkhami, *et. al.*,2008, p.5633)(Forzani; Rivas;Solis,1997, p.77).

Por sua vez, processos de neurotransmissão, bem como processos bioquímicos de óxido redução são processos essencialmente bioeletroquímicos. Dessa forma, o comportamento eletroquímico das catecolaminas e o seu provável comportamento no tecido nervoso tem sido estudado extensivamente por métodos eletroquímicos (Aafkhami, *et. al.*,2008, p.5633).

Na literatura, tem sido relatada que a oxidação das dopaminas gera a dopaminoquinonas, com transferência de dois elétrons e dois prótons, Figura 2.

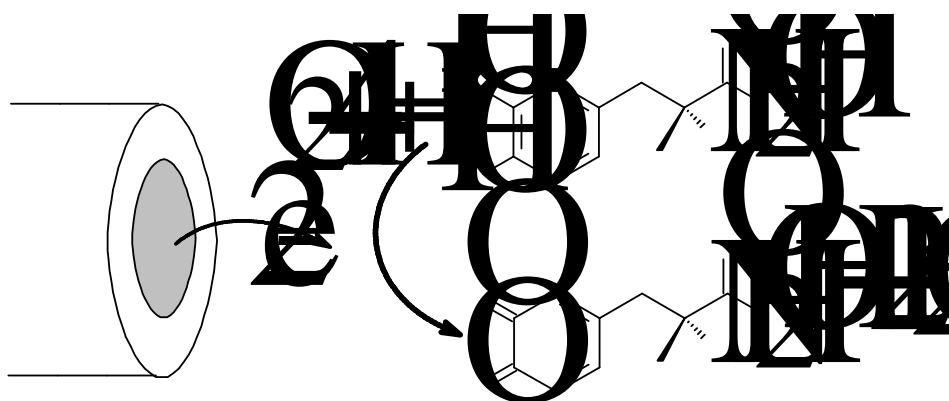


Figura 2 - Oxidação da Metildopa.
Fonte: Autores,(2011);

Por sua vez, face a inerente risco que toxicológico de metildopa e outras catecolaminas, sua determinação em preparações farmacêuticas e amostras clínicas é de suma importância. Logo, os esforços empregados na busca por procedimentos analíticos mais simples, rápidos, e de baixo custo, podem considerando a inerente eletroatividade destes compostos serem contemplados por métodos eletroquímicos (Oliveira; Neves; Vieira, 2008, p.428)(Ali; Sami, 2005, p.6).

Neste sentido, o objetivo deste trabalho é o desenvolvimento de um sensor eletroquímico capaz de detectar baixas concentrações de metildopa em solução.

2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1 Reagentes e amostras

A metildopa utilizada neste experimento foi obtida obedecendo ao padrão estabelecido pela Farmacopeia Brasileira e INCQ (Nacional de Controle de Qualidade em Saúde) e todos os demais reagentes utilizados foram de grau analítico. As soluções utilizadas foram preparadas com água purificada e deionizada pelo sistema Milli-Q (Modelo UV Plus Ultra Low Organics Water) da Millipore Corporation.

2.2 Equipamentos

Os experimentos eletroquímicos foram realizados utilizando um potenciostato/galvanostato μ Autolab (modelo PGSTAT), conectado a um computador. Na realização dos experimentos foi utilizada uma célula eletroquímica de três eletrodos. O eletrodo de trabalho foi o eletrodo de carbono vítreo (área = 2 mm), o contra-eletrodo usado foi um eletrodo de platina e o eletrodo de referência foi o eletrodo Ag/AgCl.

2.3 Ensaios

Os experimentos foram realizados usando como eletrólito suporte a solução 0,1 mol L⁻¹ de KCl em diferentes valores de pH, estes controlados com soluções tampão. Para controlar o pH nos valores 4,0, 4,5 e 5,0 foram utilizadas soluções de tampão acetato e para os valores de pH 6,0, 6,5, 7,0 e 7,5 foram utilizadas soluções tampão fosfato (Wang, 2006, p.118).

Mantendo o pH em 5,0 foram realizados experimentos para diferentes eletrólitos suporte, tais como: LiCl, NaCl, K₂SO₄, Na₂SO₄, KNO₃ e Ftalato de Potássio 0,1 mol L⁻¹.

Os ensaios eletroquímicos foram realizados pelo método de voltametria cíclica em diferentes velocidades de varredura para o intervalo de potencial de -0,5 a 1,0V vs. Ag/AgCl. Nessas leituras foram avaliados os seguintes parâmetros: influência do pH (3,0 a 8,0) no eletrólito suporte de KCl; a concentração do KCl no intervalo de 0,01 a 1,0 mol L⁻¹; a influência da velocidade de varredura (10 a 100 mVs⁻¹) e a influência do eletrólito suporte utilizado.

Em outro estudo foi avaliada a estabilidade eletroquímica da metildopa em solução mediante a repetição sucessiva de ciclos de voltametria cíclica no intervalo de potenciais de -0,5 a 1,0 V vs. Ag/AgCl em eletrólito de suporte KCl com tampão fosfato 0,1 mol L⁻¹ (pH 7,0) à velocidade varredura de 50 mVs⁻¹ (Gil, et al.,2010, p.1277).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 3 ilustra o resultado de varreduras, em diferentes velocidades, por voltametria cíclica para um intervalo de potenciais de -0,5 a 1,0 V vs. Ag/AgCl de solução de Metildopa na concentração 2,5x10⁻⁵ mol L⁻¹ usando como eletrólito de suporte a solução 0,1 mol L⁻¹ de KCl e solução tampão fosfato pH 6.

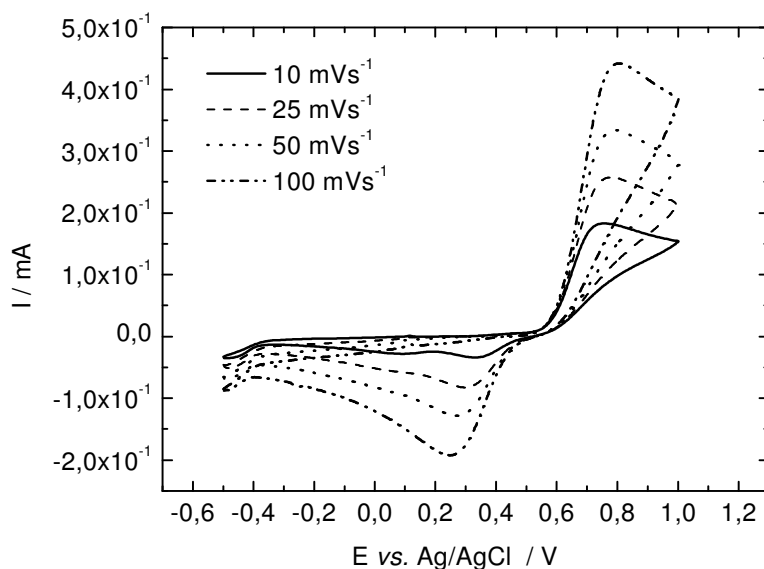


Figura 3 - Voltamogramas cíclicos em diferentes velocidades de varredura de metildopa 2,5x10⁻⁵ mol L⁻¹ em meio KCl 0,1 mol L⁻¹ pH 6. Fonte: Autores,(2011);

Observa-se um pico anódico, em 0,9 V seguido após inversão do sentido de varredura de potencial catódico em 0,3 V. Sabe-se que em meio fisiológico, a oxidação da metildopa a o-quinona dopaquinona ocorre com a perda de um par de elétrons e prótons gerando um produto instável, que busca uma conformação mais estável com autociclização formando a leucodopacroma. Esta, por sua vez, pode ser oxidada a dopacroma com perda de mais um par de elétrons gerando como produtos a o-quinona ou p-quinonamina. A voltametria cíclica possibilita a elucidação

dos mecanismos redox, uma vez que se pode através do perfil voltamétrico avaliar número de etapas envolvidas e reversibilidade do processo (Quintino; Yamashita; Agnes, 2006,p.655) (Kubota, et al., 2008, p.1755). No caso específico, observa-se que à medida que se aumenta a velocidade de varredura, há um ligeiro deslocamento de potenciais e aumento de ΔE_p apontando para comprometimento da reversibilidade, Figura 3.

Outrossim, tanto diferenças de potencial (ΔE) muito superiores ao valor teórico para processos reversíveis bi-eletrônicos (~ 30 mV), a razão I_{pa}/I_{pc} diferente da unidade condizem com comprometimento da reversibilidade, Tabela 1.

Tabela 1 – Dados voltamétricos referentes à figura 3, para $v = 50$ mV/s

I_a (mA)	I_c (mA)	I_a/I_c	E_a (mV)	E_c (mV)	ΔE_p
$6,12 \times 10^{-2}$	$-3,56 \times 10^{-2}$	-1,72	608	311	297

Fonte: Autores,(2011);

Por sua vez, a corrente aumenta de forma proporcional a raiz quadrada da velocidade, ambos fatos mostram que o processo é controlado por difusão e adsorção, Figura 4.

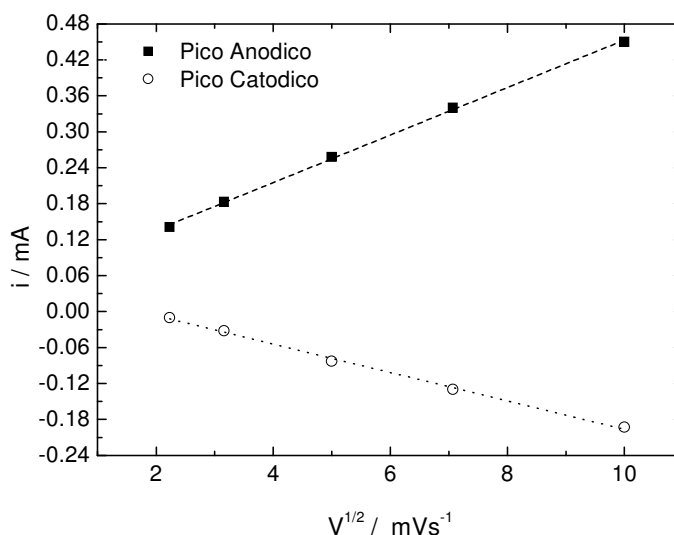


Figura 4 – Curvas $I_p \times v^{1/2}$ dos picos anódicos e catódicos de Metildopa $2,5 \times 10^{-5}$ molL⁻¹ em eletrólito suporte KCl 0,1 molL⁻¹, tampão fosfato pH 6.0 no potencial de -0,5 a 1,0 V.

Fonte: Autores,(2011);

A variação dos picos de corrente de oxidação e redução frente à variação de concentração da metildopa foi também avaliada por voltametria cíclica, apresentando uma resposta linear ($r = 0.9988$) e limites de quantificação da ordem de 1 mmol L^{-1} , Figura 5.

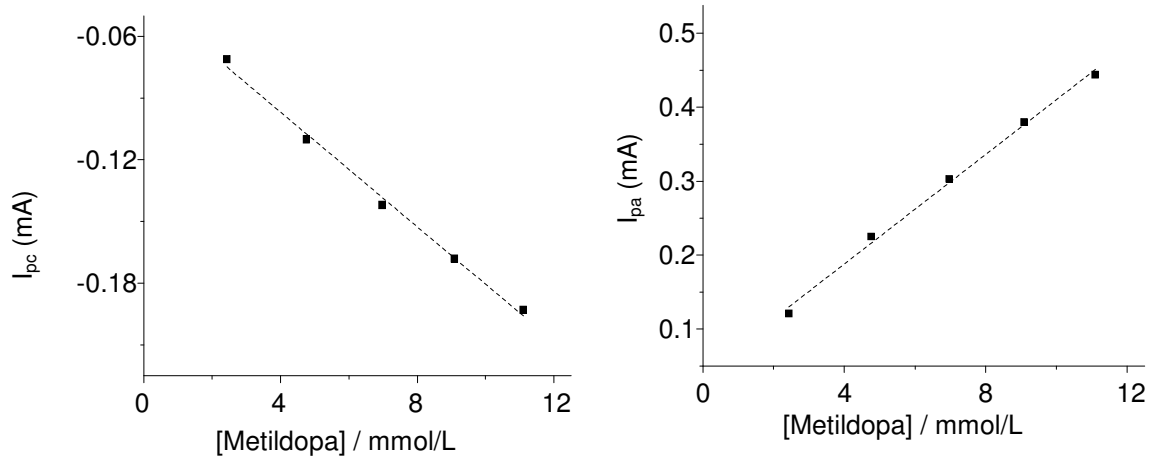


Figura 5 – Curvas de regressão linear correspondentes aos picos anódico I_{pa} (Corrente anódica) e catódico I_{pc} (Corrente catódica) dos voltamogramas obtidos diferentes concentrações de metildopa em solução KCl $0,1 \text{ molL}^{-1}$ e pH 6.

Fonte: Autores,(2011);

Um fator que interfere na reversibilidade da reação de eletro-oxidação da metildopa é a influência do pH do eletrólito. Como pode ser observado na Figura 6 a reação é reversível em pHs ácidos (4 a 6) situação que há maior disponibilidade de prótons favorecendo processo de redução e, portanto aumentando a reversibilidade do processo redox.

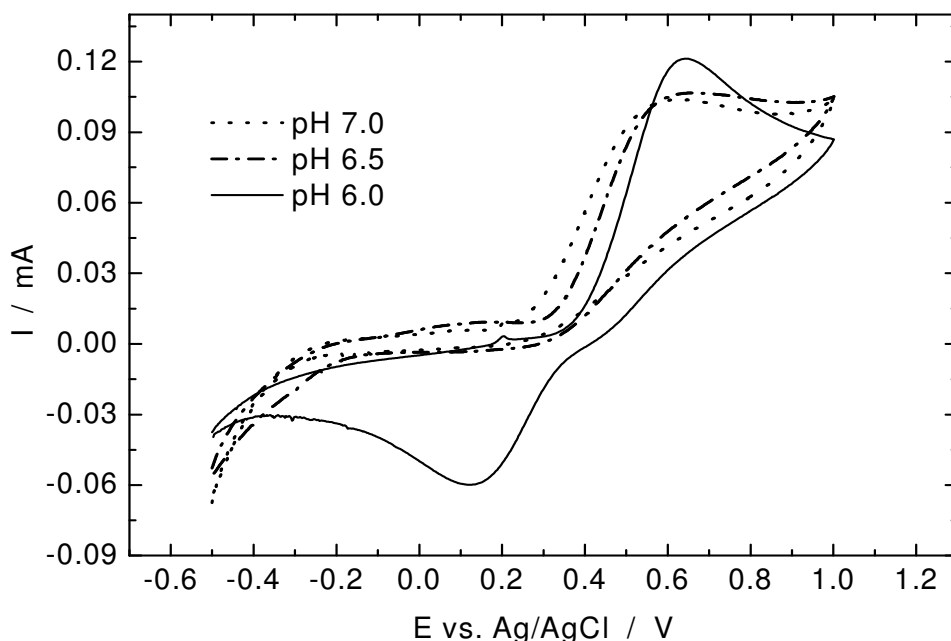


Figura 6 – Voltamogramas cíclicos revelando comportamento irreversível no meio em tampão fosfato 0,1 molL⁻¹ para valores de pH 6. 0, 6.5 e 7.0. Em faixa de potencial de -0,5 a 1,0 V, velocidade de varredura 100 mVs⁻¹ e concentração de metildopa 2,5 x 10⁻⁵ molL⁻¹.

Fonte: Autores,(2011);

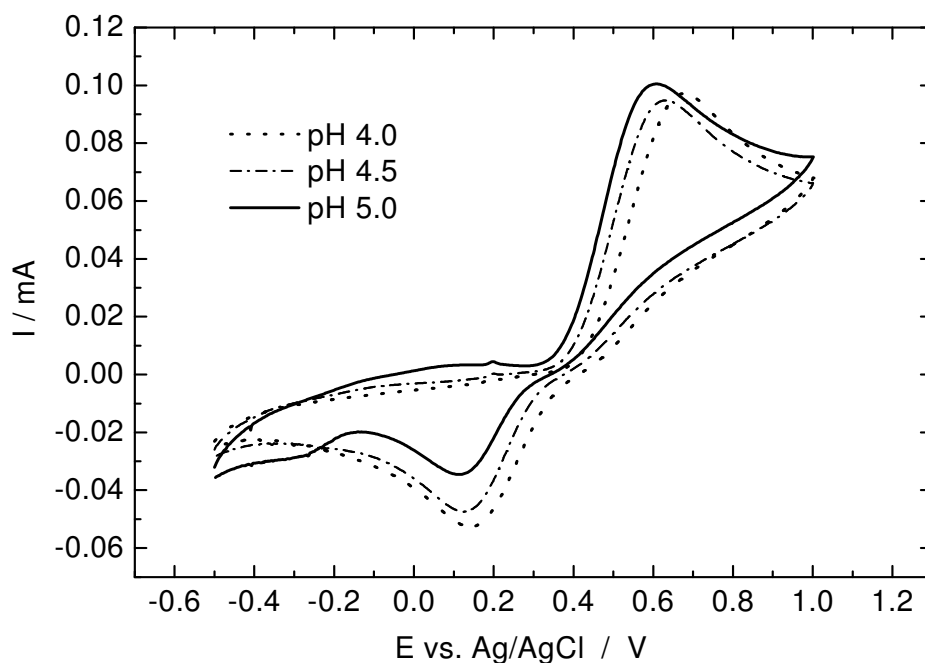


Figura 7 – Voltamogramas cíclicos revelando comportamento reversível em valores de pH 5.0, 4.5 e 4.0 de tampão acetato 0.1M, faixa de potencial de varredura de -0,5 a 1,0 V, velocidade de varredura de 100 mVs⁻¹ e concentração de metildopa 2,5 x 10⁻⁵ molL⁻¹.

Fonte: Autores,(2011);

A influência de diversos eletrólitos também foi avaliada, observando-se que quanto menor o raio iônico e maior mobilidade, maior a resolução dos voltamogramas. Dado que os processos de transferência de carga são facilitados. Tal influencia mostrou-se ligeiramente maior quando se variou apenas os ânions. Entretanto, como pode ser observado na Tabela 2 a influencia de diferentes eletrólitos (cátions e ânions) sobre deslocamentos de potencial e níveis de corrente é irrelevante, fato que condiz com a robustez do método em diferentes meios.

Tabela 2 – Parametros eletroquímicos dos diferentes eletrólitos suporte verificados.

Cátions	Ia(mA)	Ic(mA)	Ia/Ic	Ea(mV)	Ec(mV)	ΔEp
LiCl	$6,68 \times 10^{-2}$	$-3,92 \times 10^{-2}$	-1,7	603	323	280
KCl	$6,12 \times 10^{-2}$	$-3,56 \times 10^{-2}$	-1,72	608	311	297
NaCl	$9,00 \times 10^{-2}$	$-5,20 \times 10^{-2}$	-1,73	616	318	298
Anions	Ia(mA)	Ic(mA)	Ia/Ic	Ea(mV)	Ec(mV)	ΔEp
KCl	$6,12 \times 10^{-2}$	$-3,56 \times 10^{-2}$	-1,72	608	311	297
KNO ₃	$6,41 \times 10^{-2}$	$-3,78 \times 10^{-2}$	-1,69	591	318	273
K ₂ SO ₄	$9,10 \times 10^{-2}$	$-5,30 \times 10^{-2}$	-1,71	613	298	315
Ftalato K	$5,37 \times 10^{-2}$	$-2,81 \times 10^{-2}$	-1,91	523	179	344

Fonte: Autores,(2011);

4 CONCLUSÕES

A metildopa é um composto muito utilizado em formulações farmacêuticas, principalmente em soluções aquosas, um método rápido e de baixo custo para detectar esse composto químico é de grande utilidade.

O uso de eletrodos convencionais de carbono na detecção da metildopa em soluções aquosas é mostrou-se prático, reprodutível e uma alternativa viável para em análise farmacêutica da metildopa e outros análogos.

O método apresentou resposta linear em ampla faixa de concentração 4.0 a 12 mmol L⁻¹ com limites de quantificação da ordem de 1 mmol L⁻¹.

O método apresentou melhor resposta em pH ácidos (4.0 a 6.0) e a influência de diferentes eletrólitos mostrou-se irrelevante.

5 AGRADECIMENTOS: FAPEG e CNPq.

6 REFERÊNCIAS

AAFKHAMI A., NEMATOLLAHI D., MADRAKIN T., KHALAFI L. Investigation of the electrochemical behavior of some catecholamines in the presence of 4-aminobenzoic acid. **Electrochimica Acta**, v.50, 5633-5640, 2005.

ALI, S. A., SAMI, M.A. Cyclic Voltammetric Study Of A–Methyldopa At Carbon Paste Electrode. **Pakistan Journal Of Pharmaceutical Sciences**, v.18(1), 6-17, 2005.

FORZANI, E.S.; RIVAS, G.A.; SOLIS, V.M. Amperometric determination of dopamine on vegetal-tissue enzymatic electrode. Analysis of interferents and enzymatic selectivity. **Journal Electroanalytical Chemistry**., v.435, 77-84, 1997.

GIL, E. de S.; TORRES, I.M.S.; MORAES, F.C.; MACHADO, S.A.S.; MATIAS, A. E. B. Electroanalytical Method for the Analysis of Methyldopa In Pharmaceutical Tablets Using a Crude Extract of Laccase from *Pycnoporus sanguineus* as Oxidizing Agent. **Latin American Journal of Pharmacy**,v.29(8),1277-1282,2010.

KUBOTA, L.T.; SOTOMAYOR, M. D. P. T.; DIAS, I. L. T.; LANZA, M.R. V.; MOREIRA, A.B. Aplicação e avanços da espectroscopia de luminescência em análises farmacêuticas. **Química Nova**, v.31(7),1755-1774, 2008.

OLIVEIRA I.R.W.Z., NEVES A., VIEIRA I.C. Development of a new biomimetic sensor based on an $Fe^{III}Fe^{II}$ complex for the determination of phenolic compounds. **Journal Sensors & Actuators B**, v.129,424-430, 2008.

QUINTINO, M. S. M.; YAMASHITA, M.; ANGNES, L. Voltammetric Studies and Determination of Levodopa and Carbidopa in Pharmaceutical Products. **Electroanalysis**, v.18(7), 655–661, 2006.

RIBEIRO P.R.S., PEZZA L., PEZZA H.R. Spectrophotometric determination of methyldopa in pharmaceutical formulations, **Eclética Química**,v.30(3),23-28, 2005.

VIEIRA I.C., FATIBELLO-FILHO O. Spectrophotometric determination of methyldopa and dopamine in pharmaceutical formulations using a crude extract of sweet potato

root (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) as enzymatic source. **Talanta**, v.46(4), 559-564, 1998.

WANG, Joseph. Analytical Electrochemistry. 3rd ed. New Jersey: **WILEY-VCH**, 2006.