

DOSEAMENTO FÍSICO-QUÍMICO DO NORFLOXACINO. MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO DO CLORETO DE FERRO III*

Pedro Eduardo FRÖEHLICH**
Elfrides Eva Scherman SCHAPOVAL***
Simone BORTOLAN****

RESUMO: Os autores testaram um método alternativo para o doseamento do norfloxacino, através da espectrofotometria com cloreto de ferro III. O método baseia-se na formação de um composto solúvel, de cor amarelo-alaranjada, entre o norfloxacino e o cloreto de ferro III. Analisou-se, também, a estabilidade do composto formado, a fim de determinar os limites de tempo para o ensaio. Os resultados obtidos para a amostra de norfloxacino foram satisfatórios, tendo como referência o ensaio microbiológico. Assim sendo, o doseamento com cloreto de ferro III é sensível, reprodutível e de fácil execução.

UNITERMOS: Norfloxacino; doseamento; cloreto de ferro III; espectrofotometria no visível.

INTRODUÇÃO

Os métodos espectrofotométricos de doseamento de fármacos são em geral, rápidos e de fácil execução, mas nem sempre apresentam boa reprodutibilidade.

Muitos compostos orgânicos reagem com metais de transição, como o ferro por exemplo, originando compostos corados^{3,4}.

Estas reações são utilizadas para vários fins, desde reações de identificação de diversos fármacos, até análises quantitativas^{1,5}.

Não existem referências bibliográficas para o doseamento do norfloxacino através de métodos espectrofotométricos, em especial utilizando-se o cloreto de ferro III.

Uma vez constatado que uma solução de cloreto de ferro III e uma solução contendo norfloxacino reagem entre si, dando origem a um composto de cor amarelo-

* Parte do trabalho de dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Farmácia, no Curso de Pós-Graduação em Farmácia – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – 90610 – Porto Alegre – RS.

** Mestrando – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – 90610 – Porto Alegre – RS.

*** Departamento de Produção e Controle de Medicamentos – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – 90610 – Porto Alegre – RS.

**** Bolsista – Curso de Pós-Graduação em Farmácia – Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio Grande do Sul – 90610 – Porto Alegre – RS.

alaranjada, procurou-se, verificar neste trabalho, a possibilidade do emprego dessa reação numa análise quantitativa, com sensibilidade e reprodutibilidade, empregando o método microbiológico de difusão em ágar (cilindros em placas)² como referência.

MATERIAL E MÉTODOS

1. Padrão

Pesou-se o equivalente a 50,0 mg de norfloxacino padrão, transferiu-se para um balão volumétrico (b.v.) de 100,0 ml com o auxílio de 20 ml de HCl, 0,1M. Agitou-se por 15 min. Após agitação, elevou-se o pH da solução para 7,5 com o auxílio de solução de NaOH 0,1M e completou-se o volume com água. A partir desta solução, preparou-se uma segunda solução contendo 50,0 microgramas/ml de norfloxacino, utilizando-se água como solvente.

2. Amostra

Para a preparação da amostra adotou-se o mesmo procedimento utilizado na preparação do padrão, com o cuidado de filtrar a solução final em papel de filtro Whatman 40.

3. Solução de cloreto de ferro III

Utilizou-se no ensaio uma solução contendo 0,5 mg/ml de cloreto de ferro III anidro. Esta solução deve ser preparada no dia do ensaio.

4. Ensaio

A curva padrão, bem como a amostra e o branco, foi preparada de acordo com a Tabela 1 e procedeu-se às leituras em comprimento de onda de 410 nm, baseado em dados de literatura para o ácido nalidíxico⁴ e observando-se a curva de absorção do composto norfloxacino-cloreto de ferro III.

Durante o ensaio, a temperatura ambiente se manteve entre 15 e 25°C.

5. Ensaio da estabilidade do composto formado

Preparando-se soluções de padrão e amostra, conforme a Tabela 1, porém, em maior quantidade (100 ml).

Mediram-se as absorbâncias das soluções em intervalos de 15 min, realizando-se, assim, uma curva padrão e uma leitura da amostra em cada tempo, durante 75 min.

Durante as leituras mantiveram-se as soluções nas condições de ensaio. Em cada momento, as soluções foram lidas no menor espaço de tempo possível.

TABELA 1 – Preparação da curva padrão e amostra de norfloxacino para o doseamento espectrofotométrico com cloreto de ferro III

	1	2	3	4	5	amostra	branco
sol. padrão (ml)	2	3	4	5	6	–	–
sol. amostra (ml)	–	–	–	–	–	4	–
água (ml)	7	6	5	4	3	5	9
FeCl ₃ (ml)	1	1	1	1	1	1	1
Agitar. Repouso de 15 min.							
Leitura a 410 nm.							

RESULTADOS

Para a representação gráfica da curva padrão, a equação da reta foi determinada através do estudo da regressão linear, pelo método dos mínimos quadrados.

Para a curva padrão utilizaram-se 5 pontos, onde cada ponto representa a média aritmética de 6 determinações.

A Tabela 2 mostra os valores obtidos para a atividade percentual e para a concentração percentual de norfloxacino.

TABELA 2 – Valores obtidos para a atividade percentual (método microbiológico) e para a concentração percentual (método espectrofotométrico do FeCl₃)

Atividade (%)	Concentração (%)
107,43	105,82
105,40	104,47
107,22	103,20
	103,65
	104,80
	103,08
$\bar{x} = 106,68$	$\bar{x} = 104,17$

A Figura 1 apresenta a curva padrão resultante, a equação da reta e o coeficiente de correlação.

A Figura 2, relativa ao estudo da estabilidade do composto formado, representa as curvas obtidas nos diferentes tempos, acompanhadas das respectivas equações de reta e dos coeficientes de correlação.

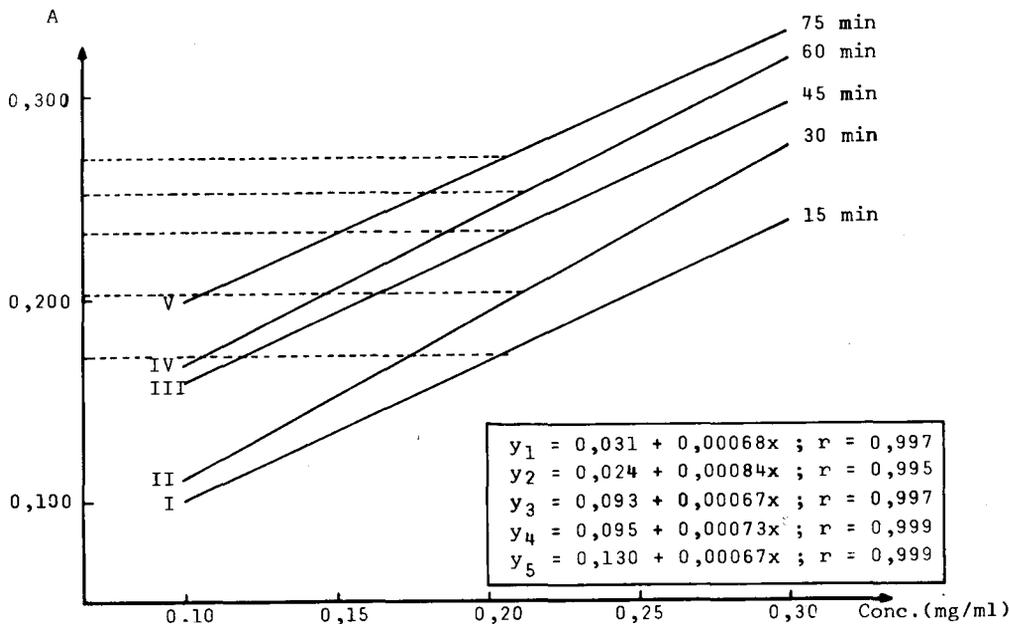


FIG. 1 - Representação gráfica da curva padrão de norfloxacino, pelo método espectrofotométrico do cloreto de ferro III.

DISCUSSÃO

A curva padrão obtida demonstrou obedecer à lei de Beer na faixa de concentração estudada.

Os resultados obtidos no doseamento se mostraram reprodutíveis. Convém observar que para o doseamento, para a curva padrão, para a amostra e para o branco, foi adotado o tempo de leitura de 15 min, uma vez que não se dispunha de maiores informações e a fim de padronizar o método.

Os resultados do doseamento espectrofotométrico foram confrontados com os resultados do doseamento microbiológico, pelo método da difusão em ágar (cilindros em placas). A análise da variância entre as médias dos resultados revelou que, para o fármaco recente, não houve diferença significativa.

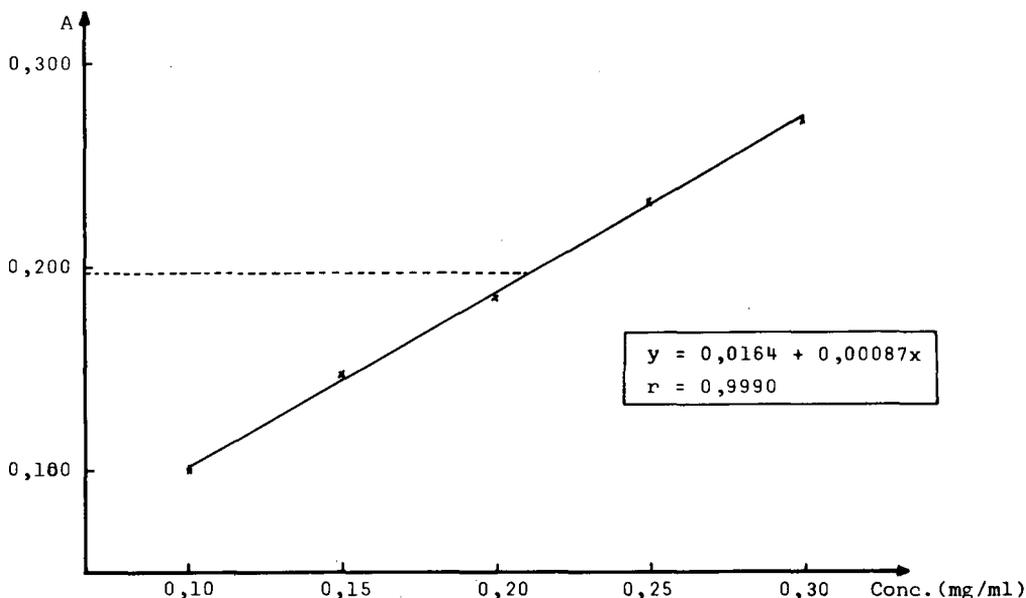


FIG. 2 - Representação gráfica das curvas padrão de norfloxacino, pelo método espectrofotométrico do cloreto de ferro III, nos tempos 15,30,45,60e75 min, respectivamente, para as curvas I, II, III, IV e V.

No estudo da estabilidade do composto formado, pôde-se observar que existe grande influência do tempo nos valores de absorbância das soluções; as soluções, porém, desde que lidas em um curto intervalo de tempo, continuaram respeitando a lei de Beer. As médias das concentrações obtidas nos diferentes tempos de leitura também se mantiveram constantes e reprodutíveis.

CONCLUSÕES

1. O método espectrofotométrico do cloreto de ferro III, seguidas as condições propostas neste trabalho, não apresentou diferenças significativas para $p=0,05$, em relação ao método microbiológico.

2. O tempo de leitura influi nos valores de absorbâncias, mas não influi no resultado final do doseamento.

AGRADECIMENTO

Agradecemos à Merck, Sharp & Dohme pelo fornecimento do padrão, matéria-prima e produto acabado.

FRÖEHLICH, P. E.; SCHAPOVAL, E. E. S.; BORTOLAN, S. – Physical-chemistry assay method of norfloxacin. Spectrophotometric assay method with iron (III) chloride. *Rev. Ciênc. farm.*, São Paulo, **12**: 171-176, 1990.

ABSTRACT: The authors proposed the use of iron (III) chloride for assay norfloxacin. The method is based on the formation of colored compound between norfloxacin and iron (III) ion. The formed compound absorbs in the visible region. At the same time, the authors analyzed the stability of the compound to set-up the time limits for the assay. The microbiological cylinder-plate assay method was used as a reference. The spectrophotometric assay method to be sensible and reproductive.

KEY-WORDS: Norfloxacin; iron (III) chloride; spectrophotometric assay method.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FARMACOPÉIA brasileira – 3. ed. São Paulo, Andrei, 1977. 1213 p.
2. FRÖEHLICH, P. E. & SCHAPOVAL, E. E. S. – Doseamento microbiológico do norfloxacin. Método da difusão em ágar (cilindros em placas). *Rev. Ciênc. farm.*, **12**, 1990.
3. MOFFAT, A. C. – ed. *Clark's isolation and identification of drugs*. 2. ed. London, The Pharmaceutical Press, 1986. p. 128-139.
4. SURMAN, P. – *Quantitative analyse von arzneistoffen und arzneizubereitungen*. Stuttgart, Wissenschaftliche, 1987. p. 67-92.
5. UNITED States pharmacopeia. 21. ed. Rockville, United States Pharmacopeial Convention, 1985. 1683 p.

Recebido em 18.01.90