

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

TIAGO MÜLLER WEBER

**ESTUDO E COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE ANÁLISE DE
COMPRIMIDOS DE ATENOLOL UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA
ULTRAVIOLETA E TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA**

Porto Alegre, novembro de 2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE QUÍMICA

TIAGO MÜLLER WEBER

**ESTUDO E COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE ANÁLISE DE
COMPRIMIDOS DE ATENOLOL UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA
ULTRAVIOLETA E TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado
junto à atividade de ensino “Projeto
Tecnológico” do Curso de Química Industrial,
como requisito parcial para a obtenção do grau
de Químico Industrial

Prof. Dr. Leandra Franciscato Campo
Orientadora

Porto Alegre, novembro 2011

Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima.

Louis Pasteur

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, o Supremo Criador da Química, por me permitir aprender um pouco mais da sua criação, e por ter estado comigo durante todo esse tempo dando forças e provando o Seu eterno amor.

Aos meus pais, Weber e Zeila e minha mana Patrícia, por terem sido meu refúgio nas horas mais difíceis. Vocês torceram, choraram, oraram, riram, sempre me incentivaram durante todos esses anos. Dedico esse trabalho a vocês.

À minha namorada Andressa, por ser minha companhia e ter me dado todo carinho e compreensão.

À professora Ana Maria, pela amizade verdadeira e por estar sempre pronta a ajudar.

Aos amigos e colegas Gisele, Jaqueline, Adan, Thyara e Camilla, pelas boas conversas. Vocês fazem e fizeram a diferença.

Aos colegas e amigos da Pharmacontrol, pela parceria.

À professora Leandra, pela disponibilidade e orientação nesse projeto.

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 6 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 8 |
| 2.1 TIPOS DE MEDICAMENTOS BLOQUEADORES ADRENÉRGICOS | 8 |
| 2.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E ESPECTROSCÓPICAS DO ATENOLOL | 9 |
| 2.3 FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO ATENOLOL | 12 |
| 2.4 PRINCIPAIS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DO ATENOLOL EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS | 13 |
| 2.4.1. ANÁLISE VOLUMÉTRICA | 14 |
| 2.4.2. VOLUMETRIA DE NEUTRALIZAÇÃO | 14 |
| 2.4.3. VOLUMETRIA EM MEIO NÃO-AQUOSO | 15 |
| 2.4.4 POTENCIOMETRIA | 17 |
| 2.5 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA | 17 |
| 3. SITUAÇÃO ATUAL | 19 |
| 4. OBJETIVO | 20 |
| 4.1 OBJETIVO GERAL | 20 |
| 4.2 OBJETIVO ESPECÍFICO | 20 |
| 5. PROPOSTA TECNOLÓGICA | 21 |
| 6. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL | 21 |
| 6.1 MATERIAIS | 21 |
| 6.2 MÉTODOS | 23 |
| 6.2.1 MÉTODO DE ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO ULTRAVIOLETA | 23 |
| 6.2.2 MÉTODO DE TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA EM MEIO NÃO-AQUOSO | 24 |
| 7. DISCUSSÃO E RESULTADOS | 27 |
| 7.1 ANÁLISE DA VARIAÇÃO DE PESO | 27 |
| 7.2 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA | 28 |
| 7.3 ANÁLISE POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA | 32 |
| 8. ANÁLISE DE CUSTOS | 49 |
| 9. CONCLUSÃO CRÍTICA | 51 |
| 10. BIBLIOGRAFIA | 52 |

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que a hipertensão no Brasil atinge cerca de 35% da população acima de 40 anos. Isso significa um total de 17 milhões de portadores da doença, segundo estimativa de 2004 do Instituto Brasileiro de Geografia Estatística (IBGE).¹

Nesse mesmo ano, o governo brasileiro criou o programa Farmácia Popular, que tem por meta permitir o acesso da população a medicamentos essenciais a um baixo custo e assim beneficiar um número maior de pessoas.² Dentre os medicamentos disponibilizados por esse programa para o tratamento dessa doença está o anti-hipertensivo Atenolol.

O Atenolol pertence à classe de medicamentos bloqueadores dos receptores beta-adrenérgicos, que são de grande interesse no tratamento de cardiopatia isquêmica, hipertensão, certos tipos de arritmia e glaucoma e prevenção do infarto.³

Sua importância é tanta, que foi um dos 20 medicamentos mais vendidos no Brasil em 2006⁴ e ocupou em 2010 a 16ª posição dos medicamentos mais vendidos no mundo.⁵

As especificações de qualidade dos produtos farmacêuticos, que incluem desde os insumos utilizados na fabricação das formas farmacêuticas até a embalagem utilizada para venda, são descritas pela farmacopeia.⁶ Nela, também estão descritas as técnicas analíticas adequadas para a análise dos fármacos conhecidos, que desse modo, serve de parâmetro para as ações da Vigilância Sanitária.

Dentre as técnicas disponíveis para o doseamento e identificação do atenolol em comprimidos estão a espectroscopia ultravioleta (UV) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A técnica de titulação potenciométrica em meio não-aquoso é descrita apenas para determinação do teor de Atenolol como matéria-prima, sendo que o teor de atenolol em cápsulas foi também determinado por esta técnica⁷ com eficiência o que permitiu cogitar que a análise de comprimidos também poderia ser realizada com sucesso.

A análise por espectroscopia UV é possível graças à presença de grupo cromóforo na estrutura da molécula de atenolol; já o doseamento utilizando a técnica de titulação em meio não aquoso é viável devido à capacidade da molécula se comportar como uma base fraca em solvente adequado.

Uma vez que as técnicas de CLAE e espectroscopia UV utilizam reagentes e aparelhos de alto custo, a possibilidade de aplicar a técnica de volumetria em meio não-

aquoso adaptada, utilizada para dosear a matéria-prima, é uma alternativa interessante para que laboratórios que prestam serviço de controle de qualidade possam realizar o doseamento de comprimidos utilizando equipamentos de menor custo e gerando menor volume de resíduos.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. TIPOS DE MEDICAMENTOS BLOQUEADORES ADRENÉRGICOS

Os fármacos que atuam inibindo seletivamente as respostas do estímulo do sistema nervoso simpático ou bloqueando os efeitos produzidos por agentes simpatomiméticos são denominados agentes bloqueadores adrenérgicos.⁸

Podem ser divididos em três classes: bloqueadores α -adrenérgicos, bloqueadores β -adrenérgicos e agentes bloqueadores de neurônios adrenérgicos. Os bloqueadores tipo β -adrenérgicos ainda possuem três subtipos: o subtipo 1 que está localizado no coração; o subtipo 2 no trato gastrointestinal, pulmões, fígado e pâncreas e o o subtipo 3 no intestino e tecido adiposo.⁹⁻¹¹ Como o fármaco de interesse deste trabalho é o Atenolol, que atua como um bloqueador β -adrenérgico, somente este tipo de bloqueador será visto.

A epinefrina e norepinefrina são os ligantes endógenos dos receptores, tanto do α como do β . Os β receptores, associados à proteína Gs (que são proteínas que, no estado inativo encontram-se acopladas a receptores no meio intracelular e que quando ativadas por estímulos adequados podem migrar pelo citosol e ativar enzimas amplificadoras, fazendo a transdução de sinais)¹² levam a um aumento da atividade de AMPc (adenosina monofosfato cíclica) intracelular, resultando por exemplo, na contração do músculo cardíaco, relaxamento do músculo liso e glicogenólise (Fig.1).

Os bloqueadores β -adrenérgicos atuam sobre receptores, bloqueando os efeitos que os mesmos causariam no sistema nervoso simpático (autônomo).¹³

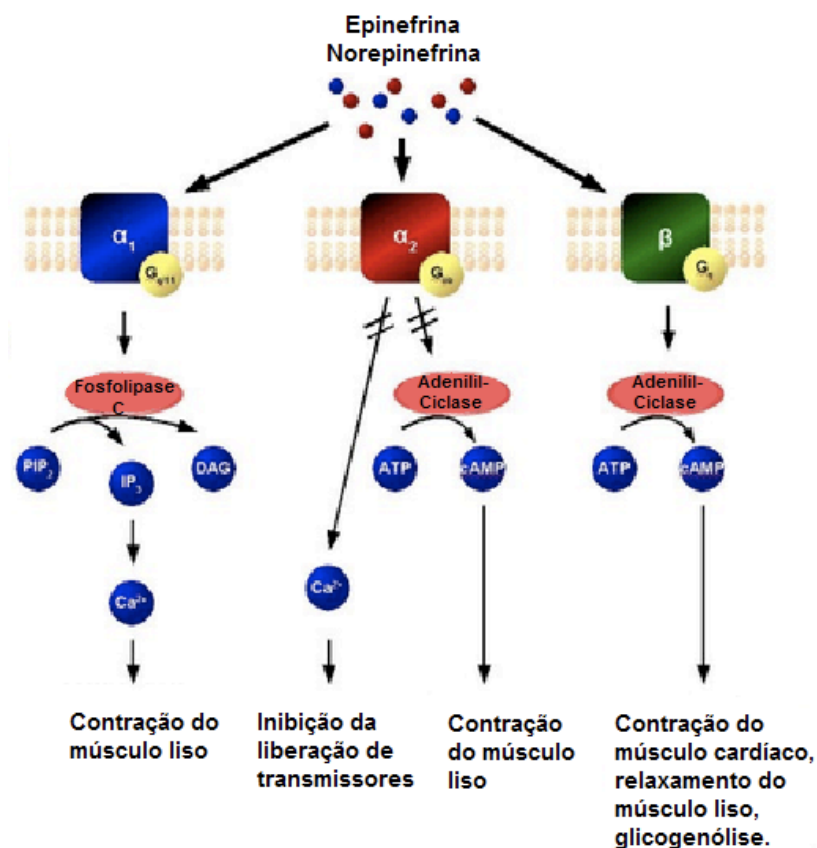


Figura 1. Mecanismo dos receptores adrenérgicos, adaptado.¹⁴

Por essas características, o atenolol é utilizado no tratamento de várias doenças, entre elas estão a hipertensão e a angina *pectoris* aguda ou crônica. Ele também é utilizado para o tratamento do infarto agudo do miocárdio e para o tratamento de taquiarritmias atriais.^{15,16}

Uma pesquisa publicada indica que o uso desse tipo de medicamento promoveu uma redução de 29% no risco de incidência de acidente vascular cerebral, 42% na incidência de insuficiência cardíaca e de 19% na mortalidade cardiovascular.¹⁷

2.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS E ESPECTROSCÓPICAS DO ATENOLOL

As moléculas que agem como bloqueadores β -adrenérgicos, como o Atenolol (estrutura 2 da Fig. 2), pertencem à classe química das ariletanolaminas (estrutura 1, Fig.2) e ariloxipropanolaminas (estrutura 2, Fig.2). São constituídas de três partes: (A) um sistema aromático substituído, onde R pode ser outro anel, ou outro substituínte que

possibilite a interação com o sítio receptor, ligado diretamente ou através de ponte metilênica à parte alfa-hidróxietilamínica (B) e (C) um resíduo alquílico substituído no grupo amino.⁸ A Figura 2 mostra a representação geral dos β-adrenérgicos:

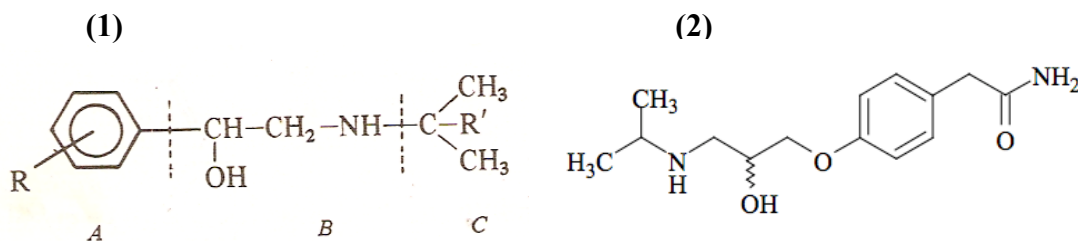


Figura 2. Fórmula geral de moléculas bloqueadoras β-adrenérgicos do tipo ariletanolaminas (1) e do tipo ariloxipropanolaminas (2). Atenolol: 4-[-2-hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxi]benzenoacetamida).

O atenolol (estrutura 2, Fig. 2) desenvolvido por Barret e colaboradores, da Imperial Chemical House Limited e foi patenteado em 1970¹⁸, sendo que recentemente foi publicada sua síntese enantiosseletiva.¹⁹

Sua identificação utilizando espectroscopia de absorção na região do ultravioleta é feita pela confirmação de uma banda alargada com máximos em 275 nm (em metanol e hidróxido de sódio 0,1 mol/L) e em 274 nm (em ácido clorídrico 0,1 mol/L) conforme mostra a Figura 3.²⁰

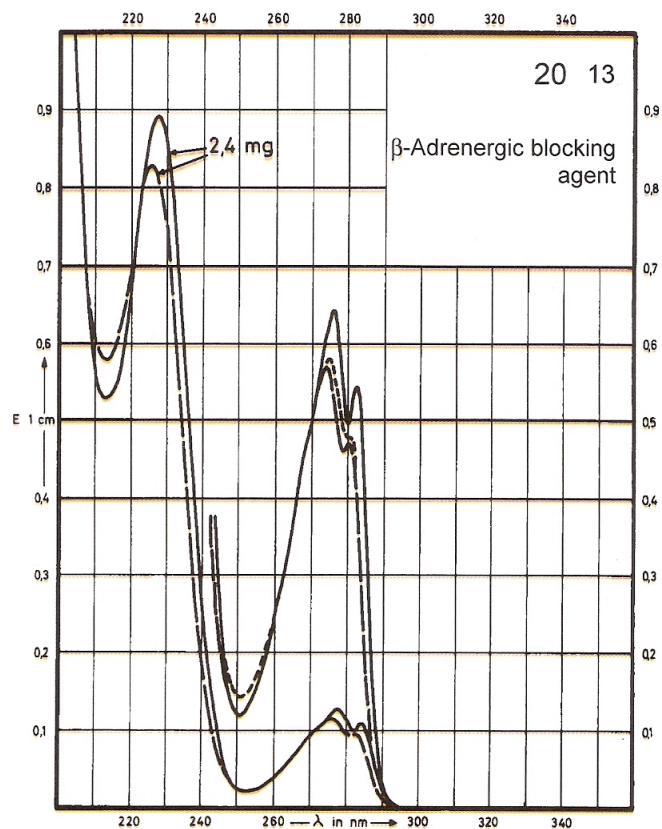


Figura 3. Espectro referência obtido da literatura para o atenolol. O traçado contínuo corresponde ao atenolol dissolvido em metanol, o traçado pontilhado menor correspondem ao atenolol dissolvido em ácido clorídrico 0,1 mol/L e os traçados maiores correspondem ao atenolol dissolvido em hidróxido de sódio 0,1 mol/L .²⁰

Utilizando espectroscopia na região do Infravermelho, obtém-se o espectro referenciado em literatura²⁰ (Fig.4), cujas principais bandas referenciadas²¹⁻²³ para o Atenolol encontram-se na Tabela 1.

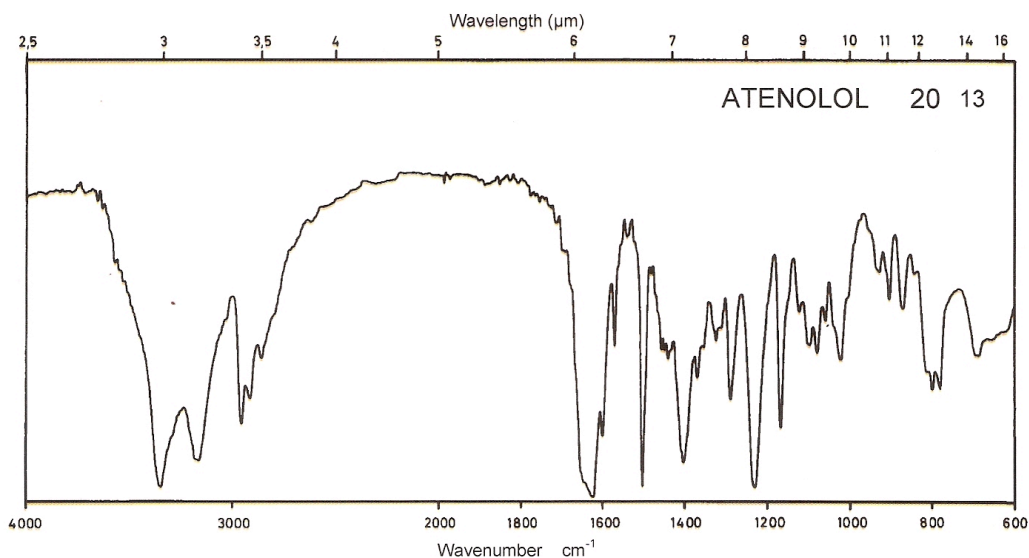


Figura 4. Espectro referência obtido da literatura²⁰ para o Atenolol na região do Infravermelho em pastilha de KBr.

Tabela 1. Identificação dos estiramentos vibracionais dos principais grupos funcionais do Atenolol utilizando a espectroscopia na região do Infravermelho²¹⁻²³.

| Ligação | Número de onda (cm ⁻¹) |
|----------------|------------------------------------|
| C=O | 1633 |
| C-C aromáticos | 1510 |
| N-H | 3000-3500 |
| C-N | 1245 |
| C-N | 1184 |

2.3. FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO ATENOLOL

O atenolol produzido industrialmente é vendido na forma de comprimidos de 25 mg, 50 mg e 100, 0mg.²⁴ Pode também ser encontrado nas farmácias com manipulação sob a forma de cápsulas em outras concentrações, dependendo da prescrição médica.

A formulação farmacêutica comprimido possui muitas vantagens tecnológicas, dentre as quais pode-se citar a precisão na dosagem, rapidez na preparação em grande escala, conservação das suas propriedades por mais tempo em comparação com

soluções, menor volume, entre outras.

Para a fabricação de comprimidos, é necessário que o pó possua características adequadas de compressibilidade, fluidez e densidade, que facilitarão a compressão e o desencaixe do mesmo da matriz da máquina. Quando o pó não apresenta tais características, é necessário o emprego de adjuvantes, que se dividem principalmente em:²⁵

- *Diluentes*: São pós inertes que tem a função de aumentar o peso do comprimido, principalmente usado quando a dosagem do princípio ativo é muito baixa. Melhoram o escoamento e a aglutinação e desagregação. Como exemplo de adjuvante diluente pode-se citar a lactose, sacarose, amido, celulose microcristalina, carbonatos, fosfatos.

- *Absorventes*: Utilizados para absorver água ou fixar componentes voláteis, como essências. O aerosil é um exemplo de absorvente composto de sílica gel.

- *Aglutinantes*: Utilizados com pós que não são compressíveis. Esses agentes ajudam a diminuir a pressão utilizada na compressão, bem como melhoram a distribuição da mistura. Como exemplo citam-se as gelatinas, polietilenoglicóis, ácido esteárico.

- *Lubrificantes*: Tem a função de evitar que o pó fique aderido na prensa, facilitando também o escoamento do comprimido após prensado. Estearato de magnésio, estearato de zinco e talco são exemplos dessa classe.

2.4. PRINCIPAIS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DO ATENOLOL EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS

Os compêndios oficiais²⁶⁻²⁹ descrevem a análise do teor de atenolol como matéria-prima por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), espectroscopia no ultravioleta e por titulação em meio não-aquoso. Já para a formulação comprimido, a técnica de determinação varia conforme a farmacopéia utilizada. A Farmacopéia Brasileira determina o uso de CLAE ou espectroscopia UV, já a Farmacopéia Americana utiliza somente CLAE, a Britânica indica a técnica UV e a Européia não possui método para determinação de comprimidos de atenolol.

2.4.1. ANÁLISE VOLUMÉTRICA

As reações utilizadas em análise por titulação podem ser divididas em quatro classes principais:³⁰

- **Reações de Neutralização ou acidimetria e alcalimetria:** Envolvem a titulação de bases livres ou de bases formadas pela hidrólise de sais ácidos fracos com um ácido padrão, chamada de acidimetria, bem como a titulação de ácidos livres ou de ácidos formados pela hidrólise de sais de bases fracas com uma base padrão, também chamada de alcalimetria. O reagente titulante é sempre um ácido forte ou uma base forte.

- **Reações de oxi-redução:** As reações dessa classe envolvem transferência de elétrons, ou seja, ocorre mudança do número de oxidação.

- **Reações de formação de precipitado ou reações de precipitação:** As reações envolvidas dependem da combinação de íons para formar um precipitado.

- **Reações de complexação:** envolvem a formação de um íon complexo, ocorrendo a substituição de uma ou mais moléculas do solvente por outros grupos nucleofílicos.

Como o atenolol se comporta como uma base fraca em meio não-aquoso, o método mais adequado para o seu doseamento é a titulação de neutralização, a qual será o alvo desse estudo.

2.4.2. VOLUMETRIA DE NEUTRALIZAÇÃO

Na volumetria de neutralização, a propriedade monitorada é a variação da concentração do íon hidrogênio.³¹ A curva dessa forma de titulação é traçada fazendo-se a leitura do pH medido *versus* volume de ácido ou base adicionada. A forma da curva varia conforme a concentração dos reagentes envolvidos. Ao ser adicionada a quantidade exata de ácido que é equivalente à quantidade de base presente no analito (reagente de concentração desconhecida), chega-se ao ponto de equivalência.

Os compostos orgânicos que alteram sua cor de acordo com a concentração dos íons hidrogênio na solução (pH) são chamados de indicadores ácido-base. Geralmente essa mudança ocorre gradualmente, dentro de uma faixa de pH. Sendo assim, torna-se possível selecionar um indicador ácido-base específico, próximo ao ponto de viragem, conhecendo-se os reagentes empregados na titulação.

Em geral, é necessário que ocorra uma mudança de duas unidades de pH no ponto de equivalência ou nas imediações do mesmo, para que se possa utilizar um

indicador. Caso o ponto de equivalência esteja em uma faixa a qual nenhum indicador forneça precisão suficiente, deve-se empregar métodos instrumentais que consigam detectar o ponto, utilizando a titulação potenciométrica ou coulométrica, ou ainda variando o solvente.

2.4.3. VOLUMETRIA EM MEIO NÃO-AQUOSO

Segundo a teoria de Brønsted-Lowry, ácidos são espécies que possuem tendência de perder um próton, e as bases são espécies que tem a tendência de receber um próton. O esquema abaixo (1) demonstra essa dissociação, onde H^+ é o próton e B^- é a sua base conjugada:



$B-H^+$ e $H-B^-$ são chamados de pares de ácido e base conjugados. Quanto mais forte for o ácido HB, mais completa será a reação, pois o ácido mais forte perde mais facilmente o seu próton do que um ácido fraco.

Ao aplicar a lei de ação das massas se obtém

$$K = \frac{[H^+][B^-]}{[HB]} \quad (2)$$

Esta equação define a força do ácido HB. Se ele for uma molécula neutra, como um ácido orgânico fraco, B^- será a base originada pela perda do próton, e a equação (2) recebe o nome de constante de ionização. Tratando-se de um ácido, a constante recebe índice K_a e se for base, K_b . Os valores dessa constante podem variar muito de grandeza, o que torna conveniente utilizar a forma exponencial de K, a qual é definida como:

$$pK = -\log K \quad (3)$$

Os fármacos, em sua maioria, são ácidos ou bases fracas ou sais dos mesmos. A conversão para forma sal possui vantagens tanto na questão de estabilidade e facilidade de manuseio, como também no aumento ou diminuição da sua biodisponibilidade no organismo.⁸

Em titulação de neutralização em meio reacional aquoso, ácidos e bases fracas dão pontos finais pouco nítidos, pois a constante de equilíbrio para a reação não é

suficientemente grande. Se for utilizado um ácido mais forte do que H_3O^+ , pode-se obter uma constante grande o bastante, de modo a obter-se um ponto final bem definido.³²

A capacidade do soluto atuar como ácido ou base depende da natureza do solvente no qual está dissolvido. A interação de uma base com o solvente exige que o mesmo possua propriedades ácidas. Sendo assim, quanto mais ácido o solvente, maior será a extensão da ionização da base dissolvida, sendo que o mesmo raciocínio se aplica para solutos ácidos e solventes básicos.

Os solventes não-aquosos são classificados em quatro grupos: protofílicos, protogênicos, apróticos e anfipróticos.

Os solventes anfipróticos são substâncias que se ionizam fracamente, sendo capazes de doar e de receber prótons. O principal solvente dessa classe é o ácido acético. Ele exibe propriedades ácidas quando se dissocia para produzir prótons, conforme demonstrado abaixo:



Mas quando um ácido muito mais forte - como por exemplo o ácido perclórico - está presente, ele recebe um próton:



O íon $CH_3COOH_2^+$ possui uma reatividade muito grande com bases. Desse modo uma base que em água seria fraca se torna forte, permitindo que a constante de equilíbrio da reação aumente, tornando a reação efetiva e a titulação possível.

Dependendo do efeito nivelador obtido pela reação entre o solvente e o soluto, a utilização de indicadores na titulação em meio não-aquoso se torna possível, porém o número de indicadores é bem mais restrito. Os mais utilizados são o cristal violeta, o vermelho de metila, azul de timol, vermelho de quinaldina e 1-naftolbenzeína.

2.4.4 POTENCIOMETRIA

Os métodos potenciométricos podem ser usados para determinar o ponto final em titulações em meio não aquosos. Para isso, se utiliza um eletrodo de vidro, e um medidor de pH na função milivolt, porque a escala de pH não se aplica em soluções não aquosas.³⁰

Normalmente utiliza-se um eletrodo combinado, que incorpora em um mesmo corpo cilíndrico, os eletrodos de vidro e de referência. Se a reação que se quer analisar envolver uma titulação ácido-base, utilizando um eletrodo de membrana de vidro, pode-se traçar uma curva potencial medido *versus* volume de titulante adicionado e encontrar o ponto de equivalência.

2.5 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

Espectroscopia pode ser definida como a ciência que estuda a interação dos diferentes tipos de radiação com a matéria.²³

Quando uma espécie absorve a radiação ultravioleta, a energia dessa radiação acaba por promover uma excitação nos elétrons de ligação de um orbital para outro.

Quatro tipos de transições eletrônicas são possíveis: elétrons do orbital sigma para sigma antiligante ($\sigma \rightarrow \sigma^*$), elétrons não-ligantes para orbital sigma antiligante ($n \rightarrow \sigma^*$), elétrons não ligantes para orbital pi antiligante ($n \rightarrow \pi^*$) e elétrons do orbital pi ligantes para orbital pi antiligante ($\pi \rightarrow \pi^*$).

A absorção da radiação visível e ultravioleta de maior comprimento de onda ($\lambda > 185\text{nm}$) está restrita a um número limitado de grupos funcionais, chamados cromóforos, que contém elétrons de valência com energia de excitação mais baixas.²³

A maioria das aplicações da espectroscopia de absorção a compostos orgânicos está baseada em transições de elétrons dos orbitais $n \rightarrow \pi^*$ e $\pi \rightarrow \pi^*$, porque as energias necessárias para esse transição situam-se na região espectral de 200nm a 700nm.

A espectroscopia de absorção molecular se baseia na medida de transmitância (T) ou absorbância (A) de soluções contidas em uma célula transparente a radiação, tendo um caminho ótico de (b).

A concentração (c) de um analito absorvente se relaciona linearmente com a absorbância, conforme a equação (6), a qual é chamada lei de Beer.

$$A = -\log T = \epsilon \cdot b \cdot c \quad (6)$$

Onde

A= Absorbância da solução

T= Transmitância da solução

b= Caminho óptico (comprimento da célula onde está a amostra)

ϵ = Absortividade molar (característico de cada substância)

Os comprimentos de onda onde ocorre a absorção podem ser relacionados com o tipo de ligação envolvida, fato esse que torna essa técnica útil também como uma ferramenta adicional para a identificação de grupos funcionais.

3. SITUAÇÃO ATUAL

A lei nº 9.787/99 estabeleceu a criação do medicamento genérico - incentivo para indústrias produzirem medicamentos cuja patente já expirou. Após quatro anos da criação dessa lei, os genéricos já se encontravam disponíveis em mais de 4.000 apresentações, e atualmente temos mais de 16 mil apresentações.³³

Em 10 anos de presença no mercado brasileiro (1999-2009), a indústria de genéricos investiu cerca de US\$ 170 milhões na construção e modernização de plantas industriais no Brasil. A previsão de investimentos até 2010 era em torno de 354 milhões de dólares.³³

Um outro ramo do mercado que também tem crescido é o de farmácias que fazem a manipulação de medicamentos. Essas mais comumente vendem o medicamento na forma farmacêutica cápsula. O principal problema enfrentado por esses estabelecimentos é que, para fazer o controle de qualidade de seus produtos, necessitariam possuir um laboratório de controle de qualidade bem equipado, o que dificilmente acontece.

Dentre as alternativas que as empresas e farmácias possuem para resolver o problema de não possuírem condições técnicas ou financeiras para realizar todos os ensaios de pureza, doseamento e identificação exigidos pela ANVISA, está a terceirização desse serviço por laboratórios de ensaios.³⁴

A Resolução RDC nº 25, de 29 de março de 2007³⁴, que dispõe sobre a terceirização de etapas de produção, de análise de controle de qualidade e de armazenamento de medicamentos, afirma que na terceirização de análises de controle de qualidade, o laboratório prestador de serviço deve realizar a validação de métodos analíticos nos casos onde o método utilizado não for farmacopeico, ou seja, o laboratório prestador de serviço deverá comprovar que o método utilizado na sua rotina apresenta o mesmo grau de confiabilidade que o descrito na farmacopéia para a mesma substância.

Como o processo de validação envolve o uso de muitos reagentes e uma grande quantidade de tempo, é preciso ter certeza que o método que se quer desenvolver é viável, sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo estudar a viabilidade da aplicação do método volumétrico como alternativa ao método espectrofotométrico na determinação do teor de atenolol em comprimidos.

4. OBJETIVO

4.1. Objetivo Geral

Este trabalho tem por objetivo estudar a viabilidade de utilização da titulação potenciométrica como método alternativo de quantificação de Atenolol na formulação farmacêutica de comprimido.

4.2. Objetivos Específicos

- Comparar os resultados obtidos na quantificação de Atenolol pelas técnicas de titulação potenciométrica e espectroscopia ultravioleta.
- Estudar a causa de possíveis interferências no método potenciométrico.
- Fazer uma comparação de custo entre as duas técnicas estudadas.

5. PROPOSTA TECNOLÓGICA

A produção de comprimidos contendo fármacos é um processo complexo que necessita de estrito acompanhamento a cada etapa para que se possa garantir a qualidade e a segurança do produto final.

Existem métodos oficiais encontrados nas farmacopeias ²⁶⁻²⁹ que descrevem as técnicas adequadas para determinar o teor do princípio ativo de cada fármaco, levando em conta a formulação farmacêutica que o contém.

O atenolol dosagem de 25 mg foi o fármaco escolhido para este estudo, sendo que o mesmo está incluso na lista de medicamentos subsidiados pelo governo federal. A proposta de empregar o método potenciométrico na determinação da concentração do princípio ativo na versão comprimidos é útil, na medida em que as técnicas analíticas oficiais disponíveis utilizam métodos que exigem equipamentos de elevado custo e solventes com alto grau de pureza. Além disso, dependendo do método empregado, é necessário fazer diluições que acabam por aumentar o volume de resíduo gerado.

Desse modo, procurar uma técnica alternativa que possa oferecer resultados satisfatórios em comparação com as técnicas oficiais, e que possa gerar menor volume de resíduos, é uma ideia interessante para que os laboratórios, tanto industriais como terceirizados, e farmácias que produzem comprimidos possam realizar o controle de qualidade com menor custo e diminuindo o impacto ambiental.

6. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Todos os ensaios foram realizados na Pharmacontrol Laboratório de Controle de Qualidade, que também forneceu os reagentes necessários.

Para fazer a comparação dos métodos analíticos de espectroscopia na região do ultravioleta e de titulação potenciométrica em meio não-aquoso, foram testados comprimidos de atenolol dosagem 25 mg genéricos de dois laboratórios, os quais serão denominados laboratório (M) e laboratório (E). Foram utilizadas duas caixas de comprimidos, cada uma com 30 unidades. Os comprimidos foram escolhidos de modo que em sua formulação possuíssem excipientes diferentes, a fim de comparar as interações que os mesmos pudessem ter na análise.

6.1 MATERIAIS

Para o ensaio da verificação dos resultados pelos métodos de espectroscopia na região do ultravioleta, e titulação potenciométrica em meio não-aquoso, foram utilizados os seguintes equipamentos e reagentes:

- Balança analítica Shimadzu modelo AY220.
- Espectrofotômetro Varian UV-Visível, modelo Cary 50.
- Eletrodo de membrana de vidro marca Digimed modelo DMS8K
- pHmetro digital Marte modelo MB-10
- Agitador magnético Fisatom modelo 752
- Metanol grau UV/HPLC marca Panreac
- Ácido acético glacial marca Dinâmica
- Ácido perclórico 0,09950 mol/L, padronizado pelo Laboratório de Preparação de Padrões Secundários (LAPPS)
- Balões volumétricos de 25mL e 50mL marca Brand
- Bureta de 10mL marca Brand
- Pipeta volumétrica de 5mL
- Amostra marca E lote 370564
- Amostra marca M lote 11080299

6.2 MÉTODOS

Para as duas amostras foi feita a análise da variação de peso, conforme preconizado na Farmacopeia Brasileira V ²⁶ a qual permite verificar se as unidades de um mesmo lote apresentam uniformidade de peso. A técnica consistiu em pesar individualmente 20 comprimidos e determinar o peso médio dos mesmos, ou seja, pesar cada comprimido, anotar seu peso e fazer a média aritmética dos pesos encontrados. Após a realização desse ensaio, foram pesados os 60 comprimidos, todos juntos dentro de um béquer e feita a média aritmética do seu peso, sendo que esse foi o valor utilizado nos cálculos. Esse procedimento foi utilizado visto que seriam necessários mais do que 20 comprimidos para a realização de todas as análises necessárias desse trabalho. Após isso, foi feita a trituração e homogeneização em geral dos comprimidos de cada laboratório.

6.2.1 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO ULTRAVIOLETA

Para confirmar a identidade da substância analisada, comparou-se os espectros obtidos entre 200nm e 400nm de uma solução de concentração de 1mg/mL de atenolol em metanol, conforme descrito na literatura.²⁰

O método utilizado para a análise do teor de atenolol dos comprimidos conforme técnica descrita na farmacopeia²⁶ foi adaptado, pois a quantidade de medicamento requerida para realizar o ensaio conforme a técnica era maior do que a disponível no momento da análise. Sendo assim, optou-se por modificar-se as diluições, mantendo-se a concentração final recomendada no método (0,01% p/v). O ensaio foi realizado em triplicata.

A equação (7) foi utilizada para fazer o cálculo de quanto do pó triturado deve ser pesado para se obter a quantidade de atenolol necessária no ensaio. Como exemplo, desejando-se pesar 200 mg de atenolol, e sabendo-se que o peso médio da marca M é de 151,78 mg e o teor descrito no rótulo é de 25mg, faz-se:

$$151,78 \text{ mg} \text{ -----} 25 \text{ mg de atenolol} \quad (7)$$

$$X \text{ mg} \text{ -----} 200 \text{ mg}$$

$$X = 1214,2 \text{ mg de pó homogeneizado.}$$

Pesou-se o equivalente a 25 mg de qtenolol em béquer, em seguida, adicionaram-se 20mL de metanol e aqueceu-se a suspensão resultante a 60°C por 10 minutos. Após agitou-se por 15 minutos com o auxílio de agitador magnético. Transferiu-se quantitativamente a suspensão para balão volumétrico de 50mL. Em seguida pipetaram-se volumetricamente 5mL para balão de 25mL e completou-se o volume com metanol. Filtrou-se a amostra e leu-se no espectrofotômetro, em 275nm.

Utilizou-se um padrão de atenolol disponibilizado pelo laboratório, para poder fazer o cálculo da concentração da amostra. A concentração do padrão utilizado foi de 138,569 ug/mL, que resultou no valor de absorbância de 0,7423. O cálculo da concentração encontrada de atenolol foi baseada na equação (8):

$$[\text{conc. amostra}] = \frac{\text{Absorbância da amostra} \times \text{conc. do padrão}}{\text{Absorbância do padrão}} \quad (8)$$

Para determinar o teor do princípio ativo presente no comprimido, desprezando-se os excipientes presentes, o cálculo foi feito utilizando a equação (9).

$$\text{Teor do compr.} = \frac{\text{conc. da amostra} \times \text{FD}}{1000} \quad (9)$$

Onde:

Conc. da amostra= Concentração da amostra foi obtida na equação (8).

FD= É o fator de diluição. Foi calculado multiplicando-se os volumes dos balões volumétricos utilizados , 50 mL e 25 mL, e dividido-os pelo volume pipetado, 5 mL, o que levou ao valor de 250.

6.2.2 TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA EM MEIO NÃO-AQUOSO

A análise foi adaptada da técnica descrita na Farmacopéia Britânica ²⁷ , onde a mesma indica pesar em torno de 200 mg de atenolol, solubilizar em 80 mL de ácido acético glacial e proceder a titulação utilizando ácido perclórico 0,1 mol/L como titulante, encontrando o ponto final potenciometricamente. O ensaio foi feito em

triplicata, fazendo o uso da mesma amostra triturada utilizada anteriormente para a análise por UV.

Para calcular o quanto de pó homogeneizado requerido na análise, utilizou-se a equação (7).

O titulante utilizado foi o ácido perclórico, HClO_4 0,09950 mol/L em ácido acético, padronizado na temperatura de 22,6°C. O ácido acético utilizado como solvente na preparação do ácido perclórico possui alto coeficiente de dilatação, sendo necessária a correção de volume de titulante caso a temperatura na hora da titulação for diferente da temperatura na qual foi padronizado.³¹ Para simplificar tais cálculos, ajustou-se a temperatura do laboratório para 22,6°C.

A técnica fornece o equivalente de atenolol para a reação utilizando titulante com concentração exata de 0,1 mol/L. Como o titulante disponível no laboratório possuía título diferente de 0,1 mol/L, fez-se a correção do título conforme demonstrado abaixo:

$$1 \text{ mL de } \text{HClO}_4 \text{ 0,1 mol/L equivale a 26,63mg de atenolol} \quad (10)$$

$$1\text{mL de } \text{HClO}_4 \text{ 0,09950 mol/L equivale a } Y$$

$$Y = 26,49 \text{ mg de atenolol.}$$

Para o cálculo do volume teórico do ponto de equivalência, onde deverá ser encontrado o salto em milivolts, utilizou-se a seguinte equação (11):

$$\text{Valor teórico (ml)} = \frac{\text{massa pesada de pó homogeneizado} \times 25 \text{ mg}}{\text{Peso médio X equivalente}} \quad (11)$$

A partir desse valor teórico, estimou-se a faixa de volume $\pm 10\%$ na qual deveria ser encontrado o ponto de equivalência. Essa especificação foi suposta para fins de comparação com o método que utiliza espectroscopia no UV, o qual fornece essa margem de aceitação, tendo em vista que o método de titulação não possui especificação para comprimidos. Caso o ponto de equivalência fosse encontrado fora desse limite, serviria de indicador de que o método proposto não seria adequado.

Para encontrar o valor da massa de Atenolol a partir do volume encontrado na titulação, utilizou-se a equação (12):

$$\text{Massa Aten} = \frac{\text{volume de titulante} \times 26,49 \times \text{Peso médio}}{\text{massa pesada}} \quad (12)$$

Para o cálculo do valor exato no ponto de equivalência utilizando semelhança de triângulos, aplicou-se a seguinte fórmula:

$$\frac{\text{maior valor (mV)} + \text{menor valor em módulo(mV)}}{\text{volume de titulante adicionado no intervalo}} = \frac{\text{maior valor (mV)}}{X} \quad (13)$$

Para uma melhor visualização e entendimento desse trabalho, as tabelas contendo os valores de volume de titulante adicionado *versus* potencial medido, derivada primeira e derivada segunda serão resumidas, apresentando somente os valores próximos ao ponto de equivalência.

7. DISCUSSÃO E RESULTADOS

7.1 ANÁLISE DA VARIAÇÃO DE PESO

Pesaram-se 20 comprimidos e calculou-se a média dos pesos para cada marca. As Tabelas 2 e 3 mostram o peso médio dos comprimidos do laboratório (M) e (E) respectivamente.

Tabela 2: Peso médio dos comprimidos da marca M.

| Comprimido nº | Peso (mg) | Comprimido nº | Peso (mg) |
|-------------------------|-----------|---------------|-----------|
| 1 | 153,4 | 11 | 149,6 |
| 2 | 153,2 | 12 | 153,0 |
| 3 | 151,0 | 13 | 156,8 |
| 4 | 152,4 | 14 | 149,5 |
| 5 | 150,2 | 15 | 151,6 |
| 6 | 151,4 | 16 | 153,3 |
| 7 | 150,3 | 17 | 155,1 |
| 8 | 158,5 | 18 | 151,2 |
| 9 | 155,2 | 19 | 158,2 |
| 10 | 150,4 | 20 | 152,3 |
| Média= 152,83 mg | | | |

A média obtida para a marca M foi de 152,83mg. A Farmacopeia Brasileira V²³ permite a variação máxima de $\pm 10\%$ a partir do peso médio para comprimidos com peso médio até 300 mg. Desta forma, os comprimidos estão dentro da especificação uma vez que os limites superior e inferior para essa amostra são respectivamente 168,1mg e 149,5mg. Esse valor foi considerado apenas para esse teste. O resultado encontrado do peso médio dos 60 comprimidos foi de 151,78mg, o qual foi utilizado nos demais cálculos.

Tabela 3: Peso médio dos comprimidos da marca E.

| Comprimido n° | Peso (mg) | Comprimido n° | Peso (mg) |
|--------------------------|-----------|---------------|-----------|
| 1 | 168,5 | 11 | 165,2 |
| 2 | 168,7 | 12 | 164,6 |
| 3 | 161,3 | 13 | 160,9 |
| 4 | 168,0 | 14 | 164,9 |
| 5 | 165,1 | 15 | 172,2 |
| 6 | 160,0 | 16 | 163,3 |
| 7 | 162,4 | 17 | 167,5 |
| 8 | 168,1 | 18 | 165,3 |
| 9 | 169,9 | 19 | 162,8 |
| 10 | 167,0 | 20 | 170,5 |
| Média = 165,74 mg | | | |

A média obtida para a marca E foi de 165,74 mg. Os comprimidos da marca E também estão dentro da especificação uma vez que os limites superior e inferior para essa amostra são respectivamente 182,31 mg e 149,17 mg. Esse valor também foi considerado apenas para esse teste. O resultado encontrado do peso médio dos 60 comprimidos foi de 164,83 mg, o qual foi utilizado nos demais cálculos.

7.2 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

Os espectros obtidos na análise de identificação na região ultravioleta das amostras de Atenolol das marcas E e M são mostrados nas Figuras 5 e 6 respectivamente.

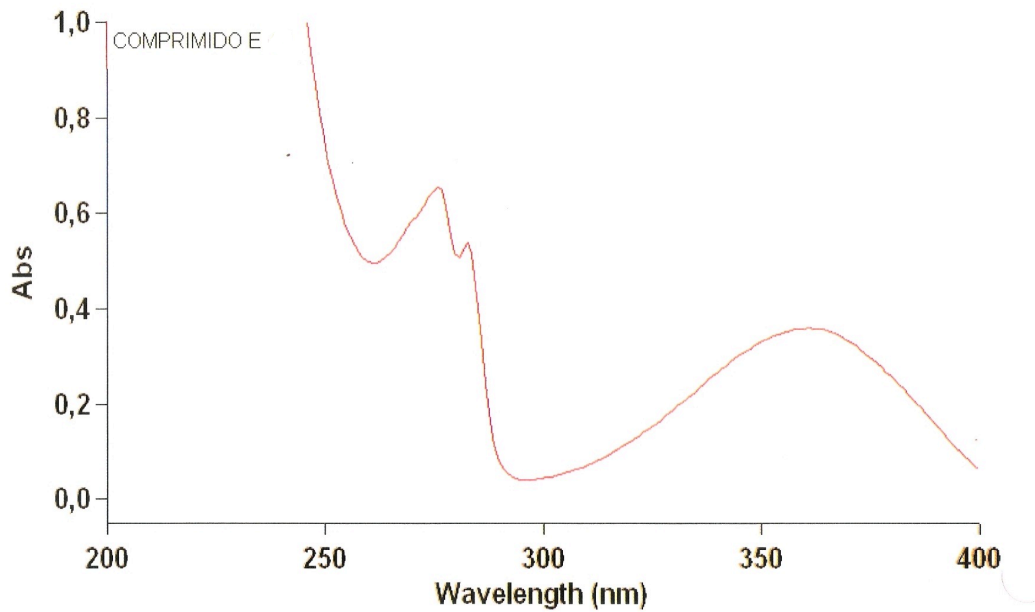


Figura 5. Espectro obtido dos comprimidos marca E na região de comprimento de onda de 200 nm a 400 nm. C = 1 mg/mL em metanol.

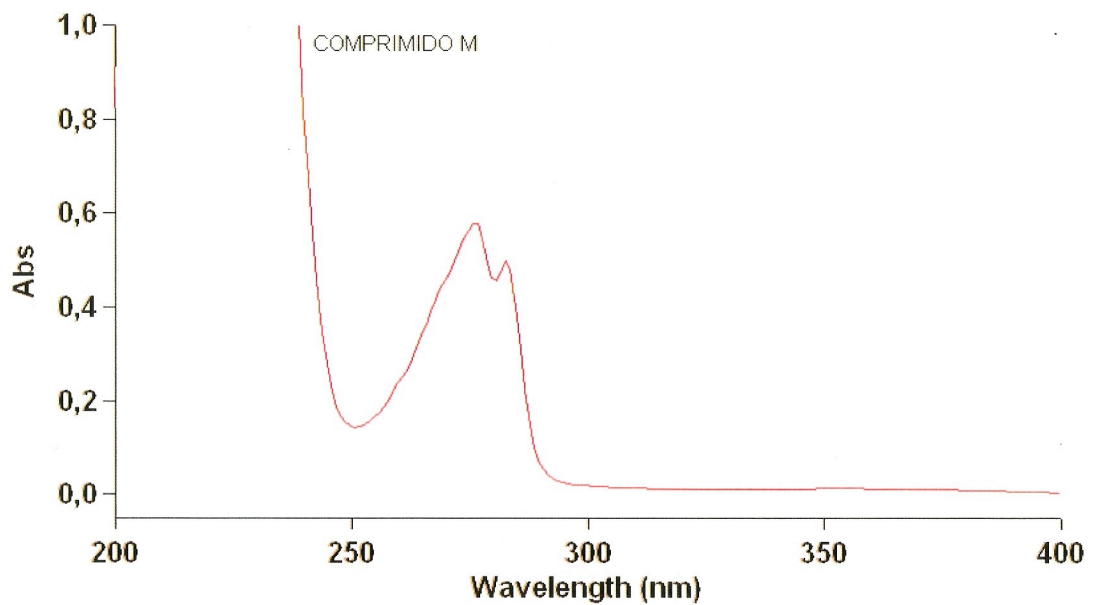


Figura 6. Espectro obtido dos comprimidos marca M na região de comprimento de onda de 200 nm a 400 nm. C= 1 mg/mL em metanol.

As amostras E e M apresentaram uma banda de absorção na região do ultravioleta entre 300-250 nm, tendo dois máximos bem definidos em 282 nm e 275 nm, valores que conferem com o espectro da Figura 3, descrito na literatura^{20,26}, sendo que a absorção da radiação nessa região é devida ao grupo cromóforo fenila da estrutura do Atenolol.³⁵

No espectro da amostra E foi encontrada uma banda adicional na região entre 400-300 nm, o que indica absorção por parte dos excipientes. A presença desta segunda banda no espectro não prejudicou a análise, visto que a sua posição no espectro, ou seja, o seu comprimento de onda não se sobrepõe à região de absorção do atenolol. O uso do solvente metanol é adequado porque a amostra se solubiliza facilmente nele, e também porque o mesmo começa a interferir somente em comprimento de onda abaixo de 210 nm.³⁶

Após a verificação da presença de atenolol através dos espectros obtidos (Fig. 5 e Fig.6), partiu-se para a análise do teor de atenolol nas amostras E e M, utilizando a técnica conforme a farmacopeia²⁶. A Tabela 4 reúne os dados obtidos do ensaio de doseamento por UV, onde M1, M2, M3, E1, E2, E3 correspondem à marca com a qual se realizou o ensaio, e o número ao lado da letra indica cada uma das amostras da triplicata.

Tabela 4: Dados obtidos do ensaio de doseamento de atenolol por espectrofotometria na região do ultravioleta, utilizando metanol como solvente, em 275 nm.

| AMOSTRA | MASSA (mg) | A | [] (ug/mL) Obtido da equação (8) | TEOR DO COMPRIMIDO (mg) Obtido da equação (9) |
|---------|------------|----------------------|-----------------------------------|---|
| E1 | 169,1 | 0,5308 | 98,992 | 24,12 |
| | | 0,5301 | | |
| | | 0,5302 | | |
| | | MÉDIA= 0,5304 | | |
| E2 | 185,0 | 0,5784 | 107,956 | 24,05 |
| | | 0,5786 | | |
| | | 0,5782 | | |
| | | MÉDIA= 0,5784 | | |
| E3 | 219,8 | 0,6997 | 130,558 | 24,48 |
| | | 0,6997 | | |
| | | 0,6996 | | |
| | | MÉDIA= 0,6997 | | |
| M1 | 152,3 | 0,5413 | 101,015 | 25,17 |
| | | 0,5413 | | |
| | | 0,5411 | | |
| | | MÉDIA= 0,5412 | | |
| M2 | 155,7 | 0,5646 | 105,383 | 25,68 |
| | | 0,5645 | | |
| | | 0,5648 | | |
| | | MÉDIA= 0,5646 | | |
| M3 | 154,3 | 0,5562 | 103,730 | 25,51 |
| | | 0,5556 | | |
| | | 0,5555 | | |
| | | MÉDIA= 0,5558 | | |

O valor médio encontrado do teor de atenolol pelo método de absorção no Ultravioleta dos comprimidos de cada marca é mostrado na Tabela 5:

Tabela 5: Média dos resultados da determinação do teor de atenolol por espectroscopia na região UV.

| MARCA | MÉDIA (mg/comprimido) |
|-------|-----------------------|
| E | 24,22 |
| M | 25,45 |

Pelos valores encontrados por essa técnica, os comprimidos analisados estão conforme a especificação dada na literatura²⁶, que aceita uma variação de 90%-110% do valor especificado de princípio ativo no rótulo do comprimido. Como o valor de atenolol declarado no rótulo das amostras era de 25 mg, para esse caso os limites ficariam entre 22,5 mg a 27,5 mg de atenolol por comprimido. Notou-se que mesmo com a grande quantidade de excipientes presentes na solução, após filtração os mesmos não interferiram no comprimento de onda utilizado para fazer a determinação do teor de atenolol.

7.3 ANÁLISE POR TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA

Os valores de volume adicionado de titulante, diferença de potencial medido pelo eletrodo, diferença de potencial e derivada primeira e segunda que foram obtidos utilizando a técnica de titulação potenciométrica realizados para as amostras da marca M, sendo M1 a amostra 1, M2 a amostra 2 e M3 a amostra 3, são mostrados na Tabela 7, Tabela 9 e Tabela 11 respectivamente. A massa pesada, o volume teórico do ponto de equivalência e os limites aceitos pela literatura²⁶ para as amostras M1, M2 e M3 estão apresentados nas Tabela 6, Tabela 8 e Tabela 10 respectivamente.

A adição de volume do titulante foi feita com espaçamentos maiores no início da titulação, pois a variação do potencial era pequena. Ao se aproximar do ponto de equivalência teórico, foram adicionadas menores quantidades de titulante, para ser possível detectar o ponto final analiticamente utilizando a derivada primeira e derivada segunda dos dados obtidos. Optou-se por demonstrar graficamente apenas a derivada segunda, visto que é ela quem fornece os dados mais precisos para os cálculos a que se propõe esse trabalho.

Tabela 6: Massa pesada e valor do ponto de equivalência esperado para amostra M1.

| Massa pesada (mg) | Massa de atenolol(mg) conforme equação (7) | Volume teórico (mL) conforme equação (11) | Limite (mL) $\pm 10\%$ |
|-------------------|--|---|------------------------|
| 1143,8 | 188,39 | 7,11 | 6,4 - 7,82 |

Tabela 7. Valores obtidos da titulação da amostra M1.

| Volume (mL) | E (mV) | $\Delta(mV)$ | $\Delta E/\Delta V$ | $\Delta E^2/\Delta V^2$ |
|-------------|--------|--------------|---------------------|-------------------------|
| 6,20 | 416,3 | 1,3 | | |
| 6,30 | 418 | 1,7 | | -20 |
| | | | 15 | |
| 6,40 | 419,5 | 1,5 | | 50 |
| | | | | |
| 6,50 | 421,5 | 2,0 | | -40 |
| | | | 16 | |
| 6,60 | 423,1 | 1,6 | | 80 |
| | | | 24 | |
| 6,70 | 425,5 | 2,4 | | -70 |
| | | | 17 | |
| 6,80 | 427,2 | 1,7 | | 10 |
| | | | 18 | |
| 6,90 | 429,0 | 1,8 | | -20 |
| | | | 16 | |

Observou-se que a variação do potencial medido pelo eletrodo ao ser adicionado o ácido perclórico foi inconstante, o que acabou tornando o gráfico da derivada segunda (Fig.8) mais difícil de ser analisado. A Figura 7 mostra o gráfico obtido da titulação da amostra M1 (Tab.7).

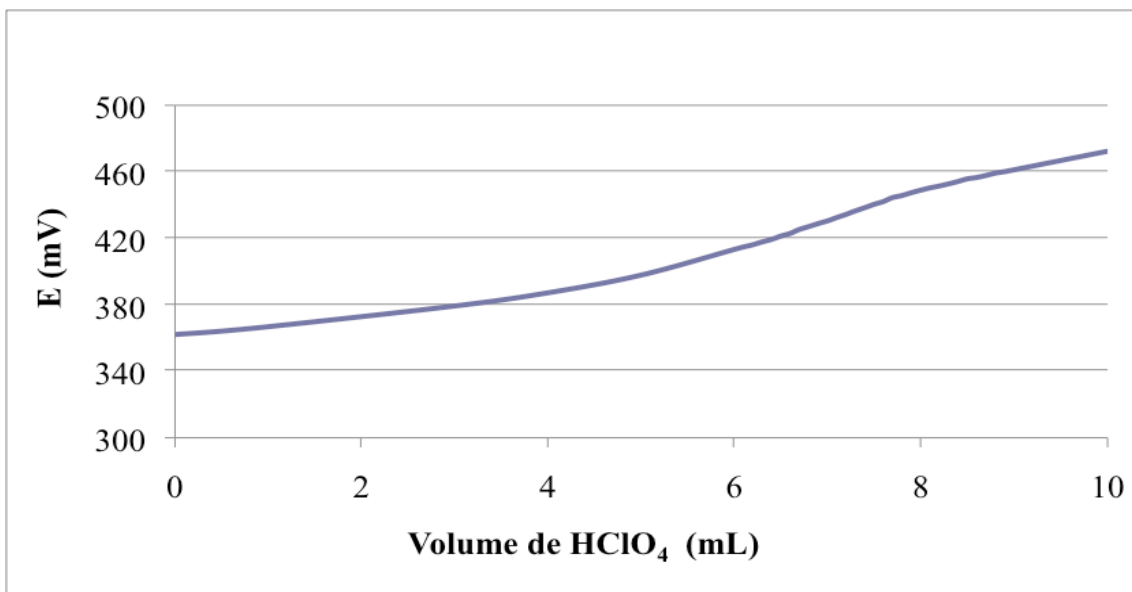


Figura 7. Curva de titulação da amostra M1, relacionando o volume de ácido perclórico adicionado com o potencial medido.

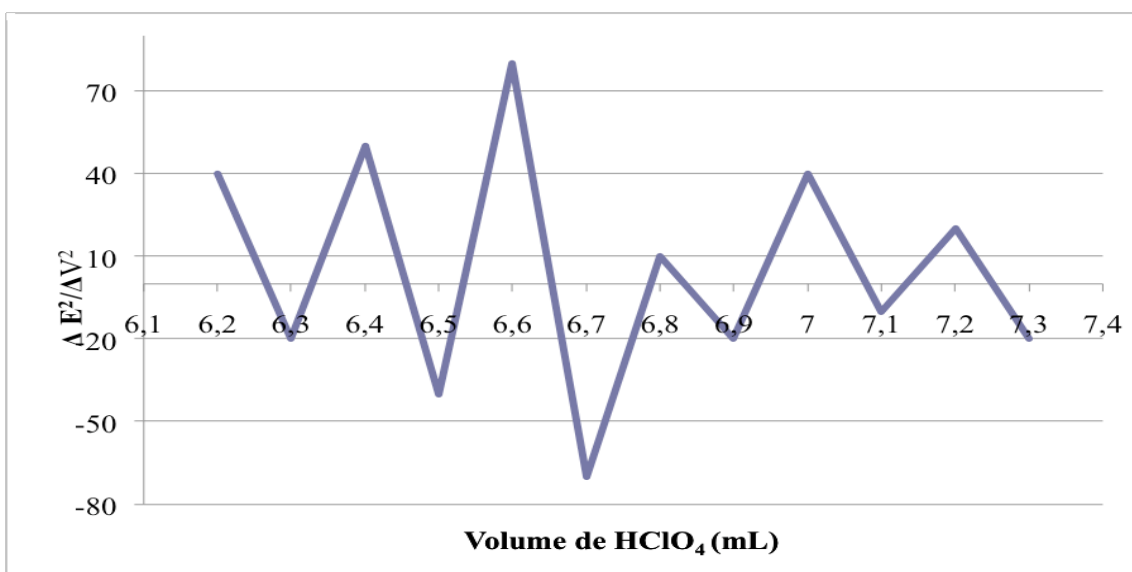


Figura 8. Gráfico da derivada segunda da amostra M1 em função do volume de ácido perclórico adicionado.

O gráfico da Figura 8 apresenta uma maior oscilação entre 6,60 e 6,70 mL. Para encontrar o ponto exato utilizou-se a equação (13), onde sabe-se que o ponto mais alto é +80 (mV) e o ponto mais baixo é -70 (mV), dessa forma calcula-se X:

$$\frac{80 + 70}{0,1} = \frac{80}{X} \quad (14)$$

onde encontra-se $X = 0,05$ mL, sendo que o volume do ponto de equivalência se torna $V = 6,65$ mL. Utilizando a equação (12), encontra-se o teor de atenolol como sendo 23,37 mg/comprimido.

Para a amostra M2, foram obtidos os seguintes dados mostrados na Tabela 8 e Tabela 9 .

Tabela 8: Massa pesada e valor do ponto de equivalência esperado para amostra M2.

| Massa pesada (mg) | Massa de Atenolol(mg) conforme equação (7) | Volume teórico (mL) conforme equação (11) | Limite (mL) $\pm 10\%$ |
|-------------------|--|---|------------------------|
| 1184,6 | 195,11 | 7,36 | 6,63 – 8,09 |

Tabela 9. Valores obtidos da titulação da amostra M2.

| Volume (mL) | E (mV) | Δ (mV) | $\Delta E/\Delta V$ | $\Delta E^2/\Delta V^2$ |
|-------------|--------|---------------|---------------------|-------------------------|
| 6,30 | 426,3 | 2,0 | | -20 |
| | | | 18 | |
| 6,40 | 428,1 | 1,8 | | 80 |
| | | | 26 | |
| 6,50 | 430,7 | 2,6 | | -10 |
| | | | 25 | |
| 6,60 | 433,2 | 2,5 | | -70 |
| | | | 18 | |
| 6,70 | 435,0 | 1,8 | | -100 |
| | | | 8 | |

Pela análise da Tabela 9, notou-se também que os valores obtidos da diferença de potencial medida geraram uma curva com fraca inclinação (Fig.9).

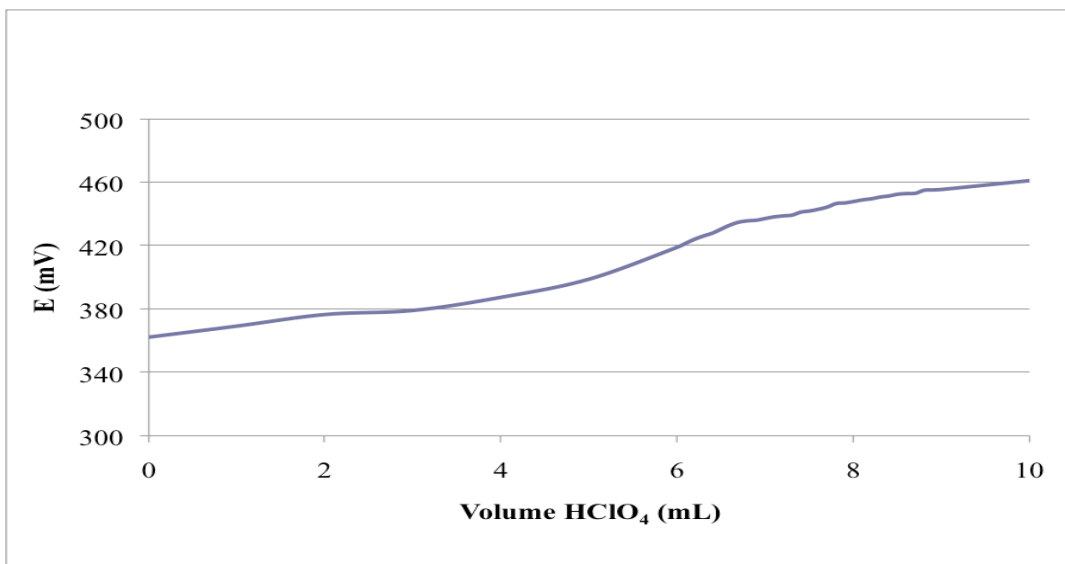


Figura 9. Curva de titulação da amostra M2, relacionando o volume de ácido perclórico adicionado com o potencial medido.

A derivada segunda obtida dessa curva é mostrada na Figura 10.

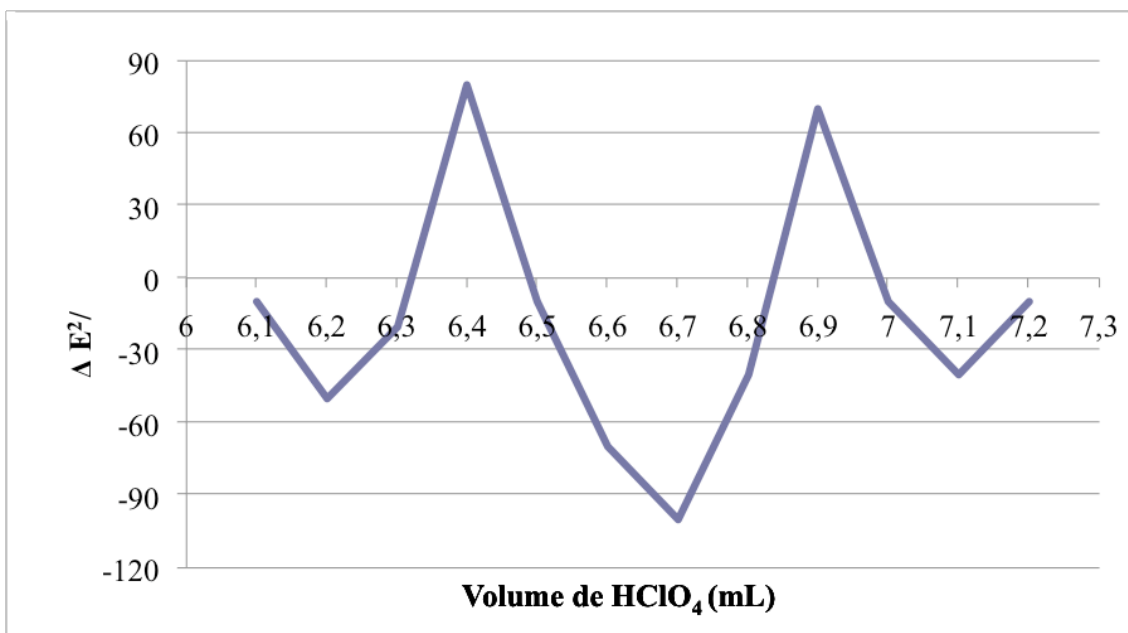


Figura 10. Gráfico da derivada segunda da amostra M2 em função do volume de ácido perclórico adicionado.

O gráfico da Figura 10 apresenta uma oscilação onde a derivada segunda apresenta um alargamento, dificultando encontrar o ponto de equivalência, que está situado entre 6,40 e 6,70 mL. Para encontrar o ponto exato utilizou-se a equação (13), mas alterando a diferença de volume adicionado na fórmula para 0,2, devido à

dificuldade de visualização do ponto. O ponto mais alto nessa curva é +80 (mV) e o ponto mais baixo é -100 (mV). Utilizando (13)

$$\frac{80 + 100}{0,2} = \frac{100}{X} \quad (15)$$

onde encontra-se $X = 0,11$ mL, sendo que o volume do ponto de equivalência se torna $V = 6,51$ mL. Utilizando a equação (12), encontra-se o teor de atenolol como sendo 22,09 mg/comprimido.

Para a amostra M3, foram obtidos os seguintes dados mostrados na Tabela 10 e Tabela 11 .

Tabela 10: Massa pesada e valor do ponto de equivalência esperado para amostra M3.

| Massa pesada (mg) | Massa de Atenolol(mg) conforme equação (7) | Volume teórico (mL) conforme equação (11) | Limite (mL) $\pm 10\%$ |
|--------------------------|---|--|--|
| 1263,7 | 208,14 | 7,85 | 7,07 – 8,63 |

Tabela 11. Valores obtidos da titulação da amostra M3

| Volume (mL) | E (mV) | Δ (mV) | $\Delta E/\Delta V$ | $\Delta E^2/\Delta V^2$ |
|-------------|--------|---------------|---------------------|-------------------------|
| | | | 7 | |
| 7,50 | 413,8 | 0,7 | | 160 |
| | | | 23 | |
| 7,60 | 416,1 | 2,3 | | 60 |
| | | | 29 | |
| 7,70 | 419,0 | 2,9 | | -20 |
| | | | 27 | |
| 7,80 | 421,7 | 2,7 | | 20 |
| | | | 29 | |
| 7,90 | 424,6 | 2,9 | | -80 |
| | | | 21 | |

Os resultados obtidos geraram uma curva que também apresentou fraca inclinação no ponto de equivalência (Fig.9), e derivada segunda indefinida (Fig.10).

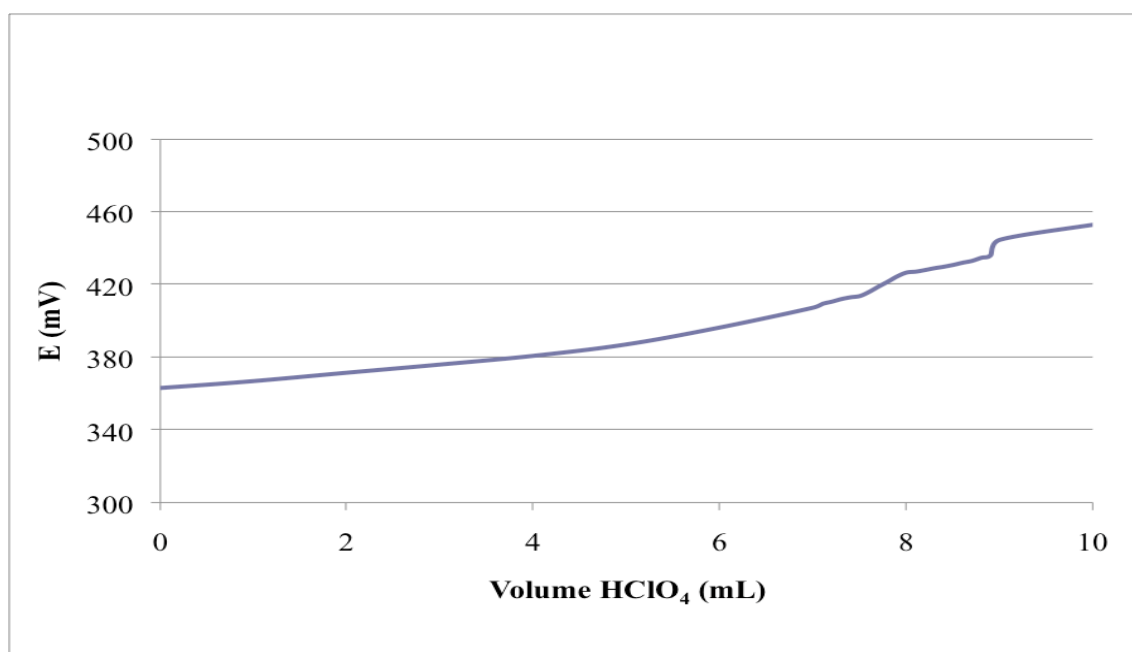


Figura 11. Curva de titulação da amostra M3, relacionando o volume de ácido perclórico adicionado com o potencial medido.

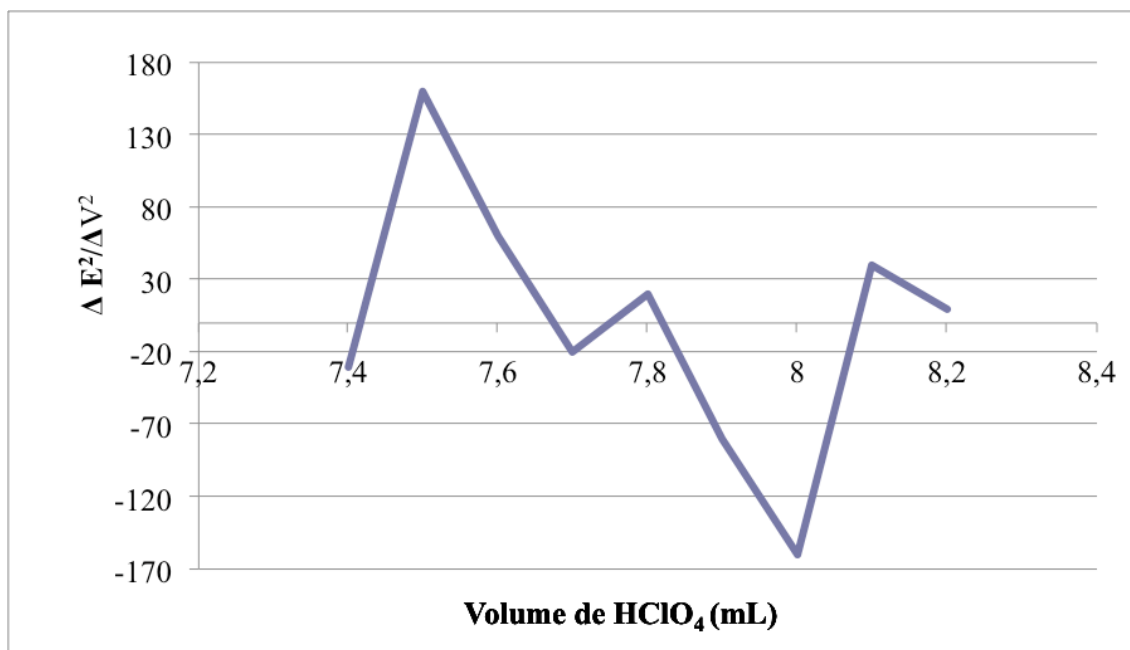


Figura 12. Gráfico da derivada segunda da amostra M3 em função do volume de ácido perclórico adicionado.

O gráfico (Fig.12) apresentou uma oscilação que não permitiu calcular o ponto de equivalência, pois os valores de máximo e mínimo estão muito próximos.

Em seguida, realizou-se o mesmo ensaio para as amostras do laboratório E.

Para a amostra E1 foram obtidos os seguintes dados mostrados na Tabela 12 e Tabela 13.

Tabela 12: Massa pesada e valor do ponto de equivalência esperado para amostra E1.

| Massa pesada (mg) | Massa de Atenolol(mg) conforme equação (7) | Volume teórico (mL) conforme equação (11) | Limite (mL) ±10% |
|-------------------|--|---|------------------|
| 1386,0 | 210,22 | 7,93 | 7,14 – 8,72 |

Tabela 13. Valores obtidos da titulação da amostra E1.

| Volume (mL) | E (mV) | Δ (mV) | $\Delta E/\Delta V$ | $\Delta E^2/\Delta V^2$ |
|-------------|--------|---------------|---------------------|-------------------------|
| 7,80 | 487,1 | 5,3 | | 30 |
| | | | 56 | |
| 7,90 | 492,7 | 5,6 | | -120 |
| | | | 44 | |
| 8,00 | 497,1 | 4,4 | | 190 |
| | | | 63 | |
| 8,10 | 503,4 | 6,3 | | -220 |
| | | | 41 | |
| 8,20 | 507,5 | 4,1 | | -20 |
| | | | 39 | |

O gráfico obtido do potencial medido *versus* volume de titulação (Fig.13) não mostra uma curva com ponto de inflexão muito acentuada, então calculou-se a derivada segunda próximo ao ponto de equivalência, para conseguir encontrar o ponto exato, conforme mostra a Figura 14.

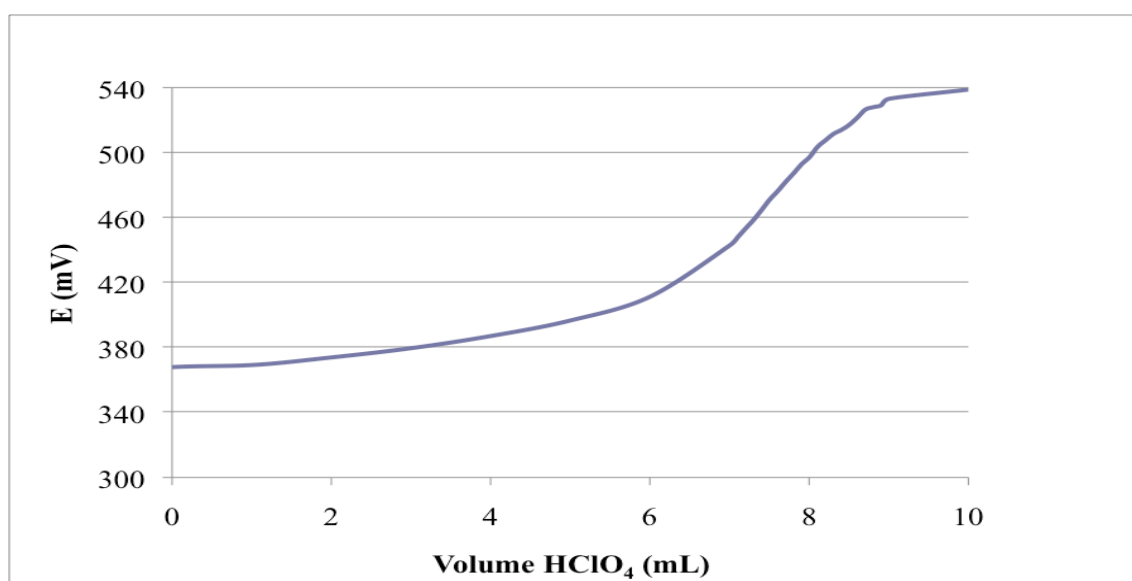


Figura 13. Curva de titulação da amostra E1, relacionando o volume de ácido perclórico adicionado com o potencial medido.

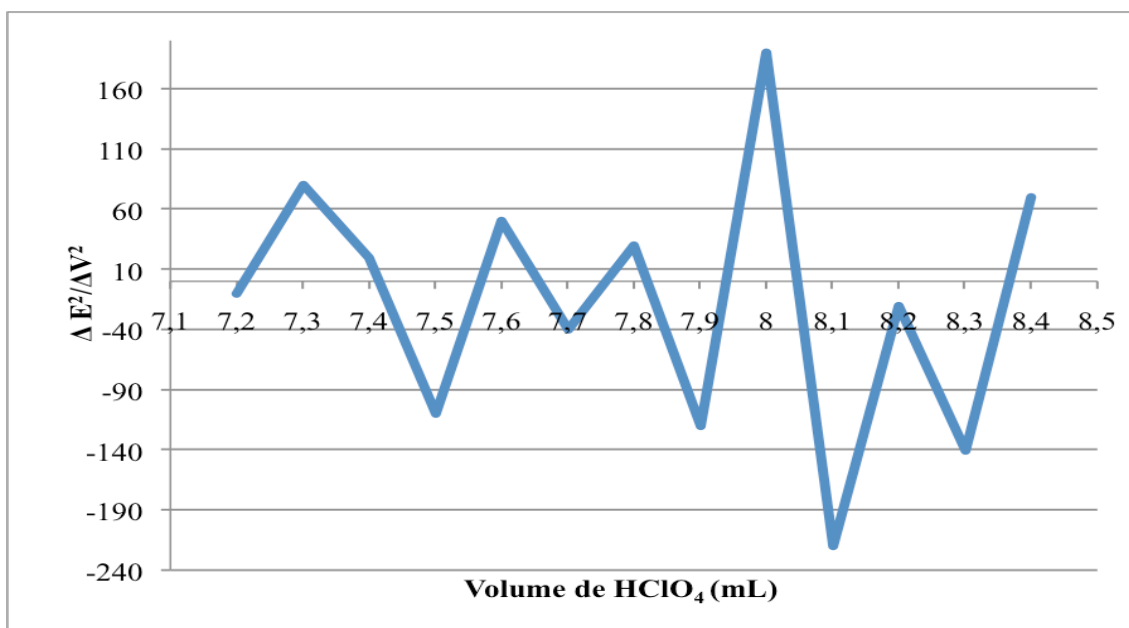


Figura 14. Gráfico da derivada segunda da amostra E1 em função do volume de ácido perclórico adicionado.

Pela Figura 14, o ponto de equivalência está situado entre 8,00 e 8,10 mL. Para encontrar o ponto exato aplicou-se a equação (13), aplicando o valor de +190(mV) para o ponto mais alto e -220 (mV) para o ponto mais baixo, como demonstrado em (15):

$$\frac{190 + 220}{0,1} = \frac{220}{X} \quad (15)$$

onde encontrou-se $X = 0,05$ mL, sendo que o volume do ponto de equivalência se torna $V = 8,05$ mL. Utilizando a equação (12), encontrou-se o teor de atenolol como sendo 25,36 mg/comprimido.

Em seguida, titulou-se a amostra E2. Os dados estão relacionados na Tabela 14 e Tabela 15.

Tabela 14: Massa pesada e valor do ponto de equivalência esperado para amostra E2.

| Massa pesada (mg) | Massa de Atenolol(mg) conforme equação (7) | Volume teórico (mL) conforme equação (11) | Limite (mL) ±10% |
|-------------------|--|---|------------------|
| 1236,6 | 187,55 | 7,08 | 6,38 – 7,78 |

Tabela 15. Valores obtidos da titulação da amostra E2.

| Volume (mL) | E (mV) | Δ (mV) | $\Delta E/\Delta V$ | $\Delta E^2/\Delta V^2$ |
|-------------|--------|---------------|---------------------|-------------------------|
| 6,90 | 469,3 | 4,8 | | 4 |
| | | | 52 | |
| 7,00 | 474,5 | 5,2 | | -35 |
| | | | 17 | |
| 7,10 | 476,2 | 1,7 | | 14 |
| | | | 31 | |
| 7,20 | 479,3 | 3,1 | | 10 |
| | | | 41 | |
| 7,30 | 483,4 | 4,1 | | -5 |

A curva obtida dos dados da Tabela 12 está demonstrada nas Figuras 15 e 16.

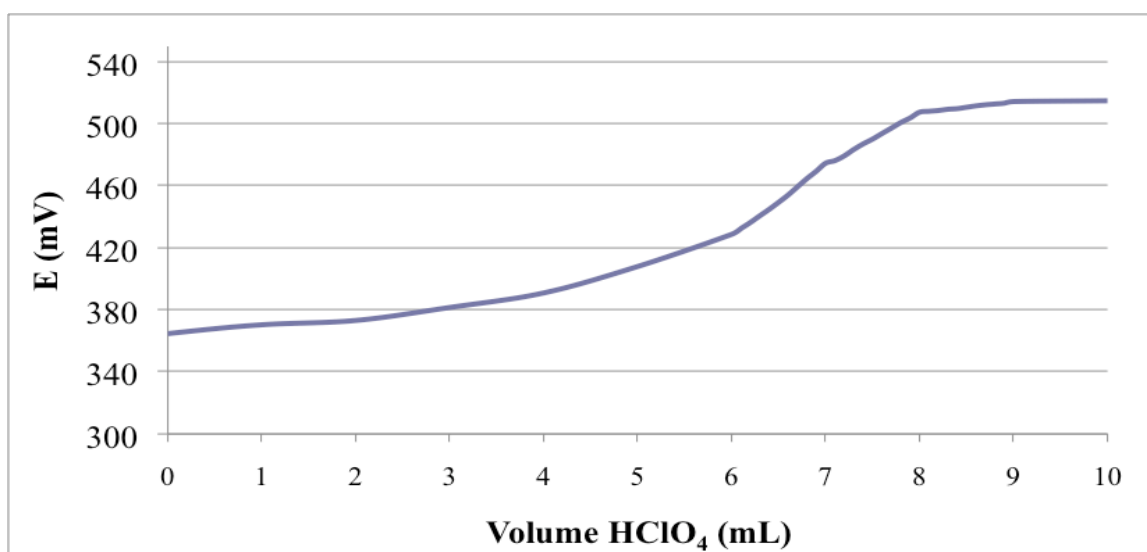


Figura 15. Curva de titulação da amostra E2, relacionando o volume de ácido perclórico adicionado com o potencial medido.

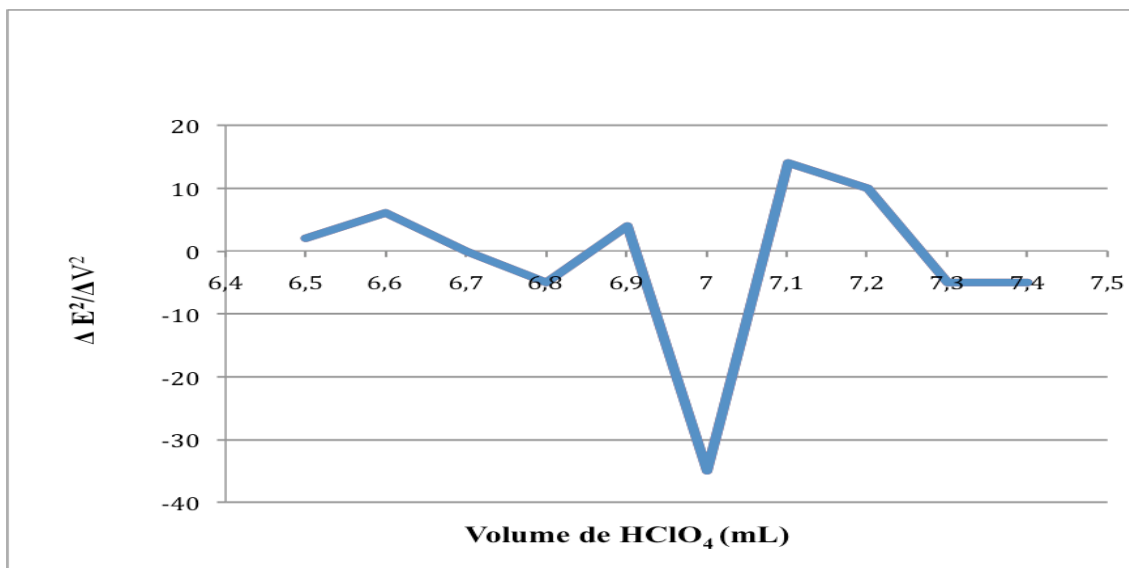


Figura 16. Gráfico da derivada segunda da amostra E2 em função do volume de ácido perclórico adicionado.

O gráfico da Figura 16 apresenta uma oscilação, onde o ponto de equivalência está situado entre 7,00 e 7,10 mL, como ponto mais alto em +14 (mV) e o ponto mais baixo em -35 (mV). Aplicando os valores em (13) obtém-se:

$$\frac{14 + 35}{0,1} = \frac{35}{X} \quad (16)$$

onde encontrou-se $X = 0,07$ mL, sendo que o volume do ponto de equivalência se torna $V = 7,07$ mL. Utilizando a equação (12), encontrou-se o teor de atenolol como sendo 24,96 mg/comprimido.

As Tabelas 16 e 17 mostram os dados obtidos do ensaio realizado com a amostra E3.

Tabela 16: Massa pesada e valor do ponto de equivalência esperado para amostra E3.

| Massa pesada (mg) | Massa de Atenolol(mg) conforme equação (7) | Volume teórico (mL) conforme equação (11) | Limite (mL) $\pm 10\%$ |
|-------------------|--|---|------------------------|
| 1241,2 | 188,27 | 7,10 | 6,39 – 7,81 |

Tabela 17. Valores obtidos da titulação da amostra E3.

| Volume (mL) | E (mV) | Δ (mV) | $\Delta E/\Delta V$ | $\Delta E^2/\Delta V^2$ |
|-------------|--------|---------------|---------------------|-------------------------|
| 6,7 | 456,3 | 3,2 | | 800 |
| | | | 112 | |
| 6,8 | 467,5 | 11,2 | | -130 |
| | | | 99 | |
| 6,9 | 477,4 | 9,9 | | -130 |
| | | | 86 | |
| 7 | 486 | 8,6 | | -210 |

A curva obtida dos dados da Tabela 16 está demonstrada nas Figuras 17 e 18.

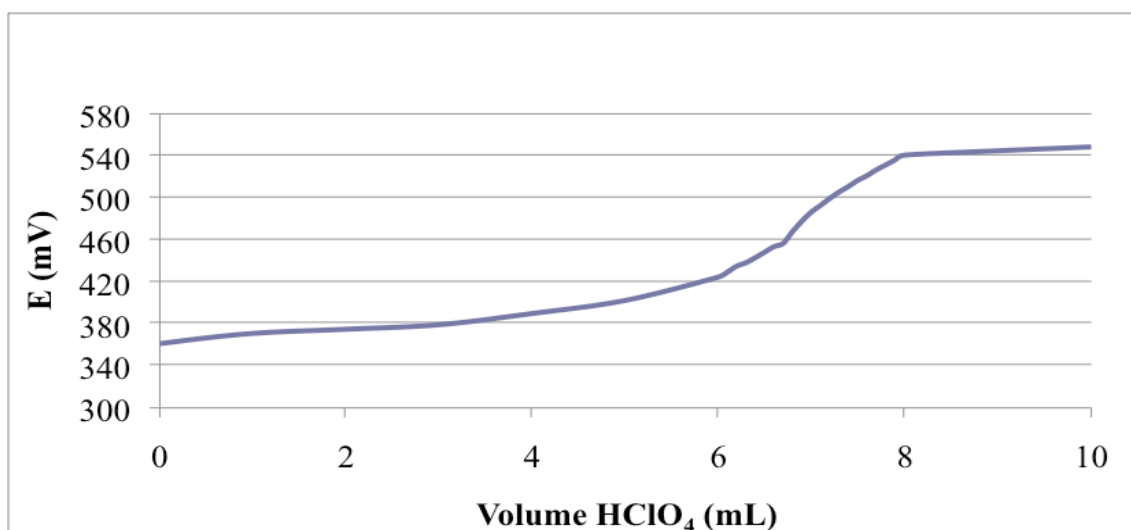


Figura 17. Curva de titulação da amostra E3, relacionando o volume de ácido perclórico adicionado com o potencial medido.

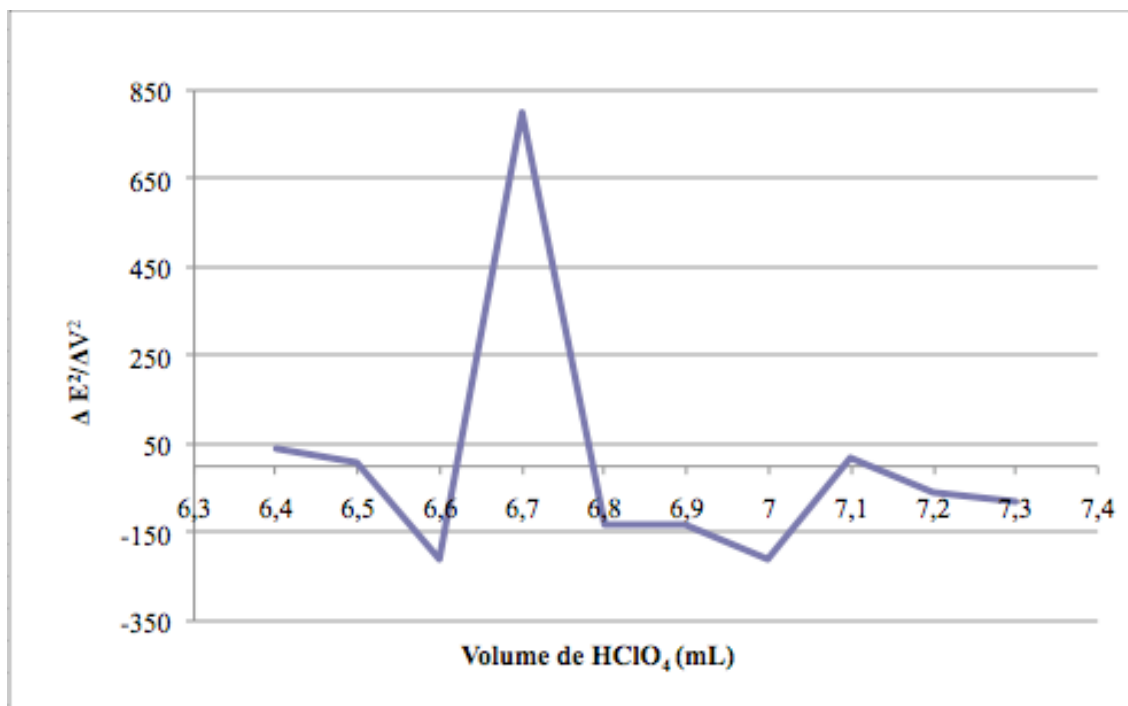


Figura 18. Gráfico da derivada segunda da amostra E3 em função do volume de ácido perclórico adicionado.

O gráfico da Figura 18 apresentou uma maior oscilação, analisando conjuntamente a Tabela 17, entre 6,70 e 6,80 mL. Utilizando (13) aplicando como o ponto mais alto +800 (mV) e como ponto mais baixo -130 (mV) encontrou-se X conforme (16):

$$\frac{800 + 130}{0,1} = \frac{800}{X} \quad (16)$$

onde encontrou-se $X = 0,08$ mL, sendo que o volume do ponto de equivalência se torna $V = 6,78$ mL. Utilizando a equação (12), encontrou-se o teor de atenolol como sendo 22,47 mg/comprimido.

Os valores encontrados para cada amostra, bem como a média final do teor de Atenolol por comprimido de cada marca encontram-se na Tabela 18.

Tabela 18. Resultado do teor de atenolol por laboratório utilizando a técnica de titulação potenciométrica.

| Marca | Amostra | Resultado (mg/comprimido) | Média (mg/comprimido) | Limite (mg) Aceito ($\pm 10\%$) |
|-------|---------|------------------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| M | M1 | 23,37 | 22,73 | 22,50 - 27,5 |
| | M2 | 22,09 | | |
| | M3 | ----- | | |
| E | E1 | 25,36 | 24,26 | |
| | E2 | 24,96 | | |
| | E3 | 22,47 | | |

O número de amostras testadas não permite ter uma certeza do comportamento da amostra em relação à técnica empregada, mas observando os valores da Tabela 18, notou-se que tanto a amostra da marca M como a da marca E apresentaram valores inferiores ao permitido na especificação, embora sua média final tenha ficado dentro da margem.

Uma possível causa da oscilação dos resultados é que em ácido acético a água possui o comportamento de uma base fraca, e assim sendo compete com o solvente por prótons, o que acaba por influenciar na atividade do íon hidrogênio no ponto de equivalência, tornando mais difícil a detecção dessa espécie pelo eletrodo.³¹

Outro fator de interferência que pode ser citado são os adjuvantes contidos na formulação do comprimido. A Tabela 19 mostra os excipientes presentes nas amostras das marcas E e M.

Tabela 19. Marca analisada e excipientes presente na formulação.

| Marca | Excipientes |
|-------|---|
| M | Carbonato de magnésio, gelatina, laurilsulfato de sódio, amido, amidoglicolato de sódio, estearato de magnésio. |
| E | Talco, croscarmelose sódica, lactose monoidratada, laurilsulfato de sódio, estearato de magnésio, carbonato de magnésio, celulose microcristalina, dióxido de silício, ácido esteárico. |

Os comprimidos apresentam alguns excipientes em comum, tais como o carbonato de magnésio, $MgCO_3$, laurilsulfato de sódio (Fig.19) e estearato de magnésio (Fig.120).

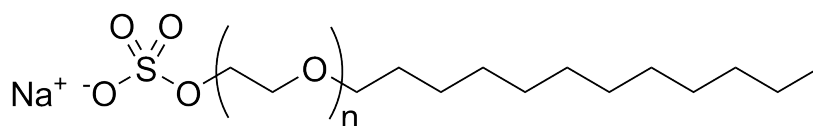


Figura. 19 Lauril sulfato de sódio, onde n é variável.³⁷

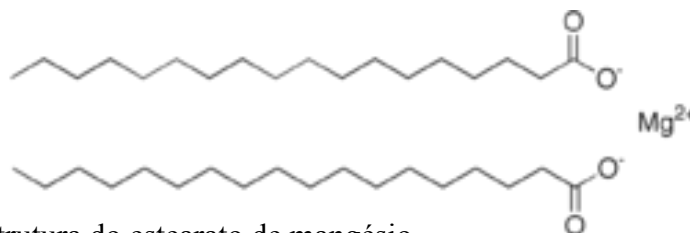


Figura. 20 Estrutura do estearato de magnésio.

Esses excipientes são substâncias capazes de se ionizar e liberar ânions carbonato, sulfato, ou estearato. Estes ânions são capazes de reagir com a espécie $CH_3COOH_2^+$ gerada da reação do ácido perclórico e ácido acético. Sendo assim, esses ânions presentes no meio reacional acabam por captar o próton, e com isto interferem na reação do atenolol, que no meio não-aquoso atua como uma base fraca, em que o par eletrônico do nitrogênio não ligado à carbonila (Fig.21) capta o próton, originando um nitrogênio quaternário e portanto com carga positiva.

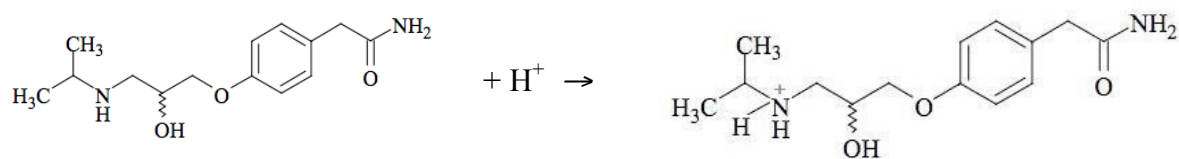


Figura. 21 Reação do Atenolol em meio não aquoso com o íon H^+ .

Não foi possível determinar qual a espécie presente no excipiente que causou a interferência, visto que na bula de ambas marcas não estava descrita a quantidade de cada excipiente utilizado na formulação do comprimido. Além desse tipo de interferência, notou-se que a solução que foi titulada não era límpida, justamente pela presença dos adjuvantes. Desse modo, os mesmos podem ter interferido na sensibilidade do eletrodo, uma vez que podem ter ficado depositados sobre a membrana de vidro, fazendo com que a leitura do potencial ficasse prejudicada.

A Tabela 20 mostra a comparação dos valores do teor de atenolol nos comprimidos obtidos pelos métodos de espectroscopia UV e titulação potenciométrica, evidenciando a interferência dos excipientes.

Tabela 20. Valores de atenolol encontrado no doseamento de comprimidos por diferentes técnicas analíticas.

| Técnica | Marca | Resultado (mg/compr.) | Técnica | Resultado (mg/compr.) |
|----------------------|-------|--------------------------|-------------|--------------------------|
| Tit. Potenciométrica | M | 22,78 | Espectr. UV | 25,45 |
| | E | 24,21 | | 24,22 |

8. ANÁLISE DE CUSTOS

A análise de custos foi baseada no material gasto para realizar o teste de viabilidade deste projeto. Os preços informados são uma média obtida entre os fornecedores dos reagentes utilizados. Os valores por custo levaram em conta o ensaio feito em triplicata e considerando que fosse necessário comprar todos os materiais e equipamentos para a realização do ensaio. Os quadros comparativos Q1 e Q2 mostram os valores aproximados de custo de cada técnica. Não foi levado em conta o desgaste anual do equipamento, nem gastos com energia elétrica, água e manutenção.

Quadro 1. Análise de custos da técnica que utiliza espectroscopia por UV.

| TIPO DE ANÁLISE | REAGENTE/ EQUIPAMENTO | PREÇO(R\$)/ UNIDADE | CUSTO POR TRIPLICATA (R\$) |
|-----------------------------|---|--|----------------------------------|
| ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA | Metanol (UV/HPLC) | 25,00/L | 5,62 |
| | Pipeta 5mL | 21,00 | 63,00 |
| | Balão volumétrico 50mL | 120,00 | 360,00 |
| | Balão volumétrico 25mL | 100,00 | 300,00 |
| | Espectrofotômetro UV com opção de varredura de espectro | 50.000 | * |
| | TOTAL | | 728,62 |
| | TOTAL | *levando em conta o equipamento | 50.728 |

Quadro 2. Análise de custos da técnica que utiliza titulação potenciométrica.

| TIPO DE ANÁLISE | REAGENTE/ EQUIPAMENTO | PREÇO(R\$)/ UNIDADE | CUSTO POR TRIPLICATA (R\$) |
|----------------------------------|-------------------------------|--|-----------------------------------|
| TITULAÇÃO POTENCIOMÉTRICA | Ácido acético glacial | 12,70/L | 2,67 |
| | Béquer 250 mL | 30,00 | 90,00 |
| | Bureta 10 mL | 255,00 | * |
| | Ácido Perclórico 0,1M | 35,00/L | 0,84 (8mL cada) |
| | Agitador magnético | 500,00 | * |
| | Barra magnética | 10,00 | * |
| | Eletrodo de membrana de vidro | 425,00 | * |
| | pHmetro | 1000,00 | * |
| | | TOTAL | 93,51 |
| | | TOTAL* | |
| | | *levando em conta o equipamento | 1283,51 |

9. CONCLUSÃO CRÍTICA

A análise do teor de atenolol por espectroscopia ultravioleta conforme técnica descrita pela literatura²⁶ mostrou-se eficiente, uma vez que apesar dos excipientes presentes, inclusive aparecendo no espectro UV da amostra E (Fig.5), não houve interferência dos mesmos no comprimento de onda usado para o cálculo do teor de atenolol no comprimido.

Foi possível comprovar, comparando os quadros Q1 e Q2 que a princípio, o custo inicial da utilização da técnica de titulação potenciométrica, caso fosse aplicável, seria mais de 40 vezes inferior ao custo inicial da técnica de espectroscopia por ultravioleta.

Por fim, notou-se que não é possível empregar a técnica de titulação potenciométrica como alternativa à espectroscopia UV, porque existem interferentes que, por estarem em quantidade muito maior no meio reacional do que o atenolol, cerca de 126 mg de excipiente, para cada 25 mg de atenolol na marca M, e 139,83 mg para cada 25 mg de atenolol, os mesmos acabam por não permitir que a reação entre o atenolol e o ácido perclórico ocorra de forma que forneça um ponto de equivalência possível de ser detectado pelo eletrodo, fornecendo um resultado não confiável.

10. BIBLIOGRAFIA

1. <http://www.saudenaotempreco.com/o_programa.php>, acessado em 11/09/11.
2. <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/decreto5090.pdf>>, acessado em 11/09/11.
3. GOODMAN, Gilman A.; GOODMAN, L.S.; RALL, T.W.; MURAD, F. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 7.ed. New York: MacMillan, 1985.
4. <http://www.medley.com.br/pdf/relat_resp_social_2006.pdf>, acessado em 16/09/11.
5. <<http://www.forbes.com/sites/matthewherper/2011/04/19/americas-most-popular-drugs/>>, acessado em 15/11/11.
6. <<http://www.inmetro.gov.br/painelsetorial/palestras/farmacopeiaBrasileira.pdf>>, acessado em 20/09/11.
7. KÜLKAMP, Irene Clemes. **Avaliação da Qualidade de Cápsulas Manipuladas de Antihipertensivo. Validação de Metodologias Analíticas: Titulométrica, Espectrofotométrica e Cromatográfica**. 2003. Tese (Mestrado em farmácia)- Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. 2003.
8. KOROLKOVAS, A. **Química Farmacêutica**. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 783p.
9. LOPEZ et al. **Expert consensus document on beta-adrenergic receptor blockers**. Revista Española De Cardiologia, v.58, p. 65-90, 2005.
10. EMILIEN, G; MALOTEAUX J. M. **Current therapeutic uses and potential of beta- adrenoceptor agonists and antagonists**. Eur. J. Clin. Pharmacol., v.53, p.389-404, 1998.
11. CASTRO, Ricardo António Esteves. **Antagonistas Adrenérgicos Selectivos Beta 1, estrutura do Atenolol**. 2006. 178 p. Tese (Doutorado em farmácia)- Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra. 2006. Disponível em <<http://www.ff.uc.pt/labmia/documentos/investiga/ricardo/Tese.pdf>>.
12. RANDAZZO, Priscila de Moura; VIDAL, Felipe Augusto Pinto. **Transdução de sinais: uma revisão sobre proteína G**. Disponível em <<http://revistaseletronicas.pucrs.br/ojs/index.php/scientiamedica/article/viewFile/7577/5940>>, acessado em 19/10/11.
13. <http://mmspf.msdonline.com.br/pacientes/manual_merck/secao_03/cap_025.html>, acessado em 18/09/11.
14. <http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/d/da/Transdução_sinal_adrenérgi>

cos.PNG>, acessado em 16/11/11.

15. MUNSON, P. L. **Principles of Pharmacology: Basic concepts & Clinical Applications**. New York: Chapman & Hall, 1996.

16. McEVOY, G.K. **AHFS Drug information 1999**. 40. Ed. Edition Rev. American Society of Health-System Pharmacists. February, 1999.

17. PATSY B.M. et al. **Health outcomes associated with anti-hypertensive therapies used as first-line agents: a systematic review and meta-analysis**. *JAMA*, v.277, p. 739-745, 1997. Disponível em

<http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/livro_eletronico/cardiovascular.html#_Na_hipertens%EA3o_arterial_sist%EAmica_1>, acessado em 18/11/11.

18. MERCK. **The Merck Index**. 13.ed. New Jersey: Whitehouse Station, 2001. 2564 p.

19. BOSE, D. S.; NARSAIAH, A. V. **An efficient asymmetric synthesis of (S)-Atenolol: using hydrolytic kinetic resolution**. *Bioorg. Med. Chem.*, v.13, p. 627-630, 2005.

20. DIBBERN, H.W et al. **UV and IR Spectra: Pharmaceutical Substances (UV and IR) and Pharmaceutical and Cosmetic Excipients (IR)**. Editio Cantor, 2002. 1 CD.

21. MOFFAT, A.C. et al. **Clarke's Analysis of Drugs and Poisons**. 3. ed. Londres: Pharmaceutical Press, 2004.

22. SILVERSTAIN, R. M.; WEBSTER F. X. **Identificação espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, Livros Técnicos e Científicos, editora S.A, 2000. 480 p.

23. SKOOG A.D.; WEST, D.M.; HOLLER, F. J.; **Princípios de Análise Instrumental**. 5.ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 836 p.

24. <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/referencia/lista.pdf>, acessado em 20/09/11.

25. NOGUEIRA, Prista et al. **Tecnologia Farmacêutica**. vol. I. 6. Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2003. 786 p.

26. **Farmacopéia Brasileira** 5.ed. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 2010.

27. **British Pharmacopoeia** 2009. London: British Pharmacopoeia Commission, 2009

28. **European Pharmacopoeia**. 4. ed. França: European Pharmacopoeia Commission, 2002.

29. **The United States Pharmacopeia 34. National formulary** 29: 34. ed . Rockville: U. S. Pharmacopeial, 2011.

30. VOGEL, A. **Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, Livros Técnicos e Científicos, 2008. 868 p.

31. OHLWEILER, Otto Alcides: **Química analítica quantitativa**, 3 ed. Rio de Janeiro: LTC, Livros técnicos e científicos, 1982. 226 p.
32. HARRIS, Daniel C. **Análise química quantitativa**, 7.ed. Rio de Janeiro: LTC, Livros Técnicos e Científicos, 2008. 868 p.
33. <<http://www.progenericos.org.br/index.php/historia>>, acessado em 13/10/11.
34. <<http://www.redemetrologica.com.br/2010/>>, acessado em 28/09/11.
35. CAPLAR, V., et al. **Atenolol, in Analytical profiles of drug substances and excipients**, vol 13, K. Florey, Editor. 1984, New York: Academic Press, p.1-25.
36. GONÇALVES, Marié Ma de Lourdes Sadler Simões. **Métodos instrumentais para análise de soluções: Análise quantitativa**. 4.ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkan, 2001. 1050 p.
37. <http://www.emfal.com.br/alcool/_ArquivoProdutos/59003.pdf, acessado em 14/11/11>.