

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BÁRBARA VIERO DE NORONHA

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS SIMPLES PARA A
DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE FARMACÊUTICO
UTILIZANDO TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS

CURITIBA

2012

BÁRBARA VIERO DE NORONHA

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS SIMPLES PARA A
DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE FARMACÊUTICO
UTILIZANDO TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS

Dissertação apresentada ao
Curso de Pós-Graduação em
Química, Área de Concentração
Química Analítica, Departamento
de Química, Universidade
Federal do Paraná, como parte
das exigências para a obtenção
do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Luiz
Humberto Marcolino Junior

Co-orientador: Prof. Dr. Márcio
Fernando Bergamini

CURITIBA

2012

Dedico esta dissertação a todos que de alguma forma me auxiliaram e me apoiaram possibilitando a concretização deste sonho. Em especial minha família, meu porto seguro, meu abrigo, meu recanto. Muito obrigada.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, Àquele que me presenteou com o bem mais precioso que podia receber - a vida - e com ela a capacidade para pensar, amar e lutar pela conquista de meus ideais. Muitas foram as lutas, maiores as vitórias, e isso porque o Senhor se fez presente, transformando a fraqueza em força e a derrota em vitória. Obrigada Senhor;

Ao meu orientador, professor Dr. Luiz Humberto Marcolino Junior, pela minha acolhida aqui na UFPR. "Da mesma forma, um discípulo nunca pode imitar os passos do seu guia. Porque cada um tem uma maneira de ver a vida, de conviver com as dificuldades e com as conquistas. Ensinar é mostrar que é possível. Aprender é tomar possível a si mesmo". (Paulo Coelho). Obrigada por me mostrar que é possível, por toda compreensão, dedicação e disponibilidade em me ajudar, por me proporcionar um grande crescimento intelectual e profissional, pela amizade e confiança;

Ao professor Dr. Márcio F. Bergamini pela co-orientação, troca de idéias, conselhos, contribuições e principalmente pelo incentivo. Obrigada pela amizade;

Ao professor Dr. Gilberto Abate e a Dra. Viviane Gomes Bonifácio pelas grandes contribuições no exame de qualificação. Ao professor Dr. Ronaldo Spezia Nunes e novamente ao professor Dr. Gilberto Abate, membros desta banca;

A professora Dra. Ionara Regina Pizzutti, minha orientadora na iniciação científica na UFSM, por toda ajuda durante a minha graduação. Agradeço a oportunidade que me destes de trabalhar no VWA Food and Consumer Product Safety Authority, na Holanda, onde aprendi muito sobre cromatografia, pesticidas e micotoxinas. Obrigada pelas discussões científicas e conselhos pessoais, por toda a amizade, carinho, apoio e cumplicidade nesses anos que passamos juntos. A você todo o meu carinho, admiração e gratidão;

A todos os colegas (e aos ex-colegas também) do LabSensE que conviveram comigo durante esses dois anos: Fabio, Paulo Sor, Amábile, Ava, Fran, Lis, Viviane, Talita, Felipe Ramiro, Sérgio, Maurício, Eduardo, Arthur, Felipe Amaral, Alyne, pela ajuda, apoio e principalmente pelo bom ambiente de trabalho;

Aos meus ex-colegas do CEPARC-UFSM em especial a Rose, Cátia Rafael e Graci pelo carinho, amizade, cumplicidade e pelo ótimo ambiente de trabalho;

Aos meus amigos de graduação na UFSM, em especial, a Sabrina e o Rodrigo, pelo convívio, amizade, compreensão, estudos e muitas risadas, claro!

Aos meus pais Marcelo e Helena. Dizer muito obrigada a vocês por essa vitória é pouco. Você, pai, e você, mãe, que me viram crescer e ensinaram a traçar meu caminho, que sofreram diante de minhas tristezas e vibraram pelas minhas conquistas, que não hesitaram em medir sacrifícios por mim. Que me deram certeza frente às minhas dúvidas e coragem frente aos meus medos. Em vocês busquei e encontrei o que tenho de melhor: meus princípios, meu caráter e minha essência. Tenham a certeza de que serei eternamente grata. Eu amo vocês!

As minhas irmãs, Marcele e Paolla, agradeço pelo carinho, companhia e momentos de felicidade vividos a cada dia. Obrigada por me proporcionarem a melhor infância que eu poderia ter: brincadeiras mirabolantes, histórias malucas ao dormir, madrugadas jogando vídeo game, muitas traquinagens e é claro muitas brigas pra lembrarmos até a eternidade. Hoje, superamos nossos sete anos de diferença de

idade e cada vez somos mais unidas. Agradeço a Deus por ter vocês em minha vida. Eu amo vocês demais!

Ao meu sobrinho e afilhado Arthur, pelo teu sorriso puro, tua ingenuidade, pelo brilho dos teus olhos e inocência de criança. Agradeço por me fazer sorrir com as coisas mais simples da vida e por me fazer acreditar que eu sou a melhor tia do mundo! Quero que tu saibas, quando entederes melhor, que esta conquista foi por ti. Deus te abençõe sempre! Te amo!

A minha avó paterna Amália (in memoriam). Vozinha eu sei que de onde você estiver, estará com muito orgulho de mim, pois você sempre incentivou todos ao teu redor a estudar. Apesar de eu me recordar pouco de ti, sinto muito tua falta. Em breve a gente se encontra!

A minha avó materna Emília, minha “vecchia”, minha vencedora, minha inspiração. Sempre me cuidando, fazendo dos meus cafés da tarde os mais especiais da minha infância. Obrigada por ter cuidado da nossa família, superando a perda precoce do vô Rosalino com muita garra. Vecchia do meu coração te amo!

A minha tia e madrinha Vergínia, que foi a incentivadora da minha escolha pela Química e me ajudou durante toda minha graduação na UFSM. Tia, obrigada por assumir nossa família na falta do vô Rosalino e ter tomado conta da vó Emília, de todos teus irmãos e sobrinhos com tanto amor e carinho. Admiro-te muito, este título és teu!

Aos meus sogros Evandro e Ivone, ao meu cunhado Rodrigo e a minha sobrinha Maria Clara, pelo apoio, carinho e incentivo.

Ao meu namorado Sandro, que apesar dele ser físico e eu química; dele ser gremista e eu colorada; dele ser yang e eu ser yin; dele ser quieto e eu ser muito falante; dele ser razão e eu ser coração; dele ser organizadíssimo e eu ter uma bagunça organizada; dele não comer doce e eu me amarrar num chocolate; apesar das adversidades, existe uma lei de Newton que nos justifica: os opostos se atraem. Obrigada pela ajuda, apoio, compreensão dedicados a mim. Eu te amo S2.

Ao quarteto Reboustianas de Santiago City, Dani, Juliane e em especial minha amiga Mariciane pela convivência, pela amizade sincera e carinho verdadeiro. Mari tu és a irmã que pude escolher.

Aos meus anjos de quatro patas: Bob, Tansinha, Lulu, Katita, Cristal, Lillica (Pinschers); Dexter (Bull terrier), Jade (Labradora), Bruttus (Rottweiler) in memoriam, Tunico e Flor (Yorkshire), pelo amor incondicional e fidelidade. Obrigada por me amarem instintivamente sem orgulho, preconceito ou interesse!

Ao Sport Club Internacional, por tantas alegrias, gritos, choros, espermeios, revoltas, xingamentos, bebedeiras, risadas, felicidade ao extremo. Obrigada por me proporcionar essa avalanche de sentimentos, os quais me fizeram sentir intensamente viva e CAMPEÃ DE TUDO! Colorado, colorado, nada vai nos separar!

A todos os técnicos do DQ-UFPR que contribuíram direta ou indiretamente com esse trabalho, em especial ao secretário do PPGQ-UFPR Marcelino Câmara;

Ao CAPES/REUNI pela bolsa concedida;

Por fim, gostaria de agradecer a todos que contribuíram direta ou indiretamente para que esse trabalho fosse realizado, meu eterno AGRADECIMENTO.

*Um pouco de ciência nos afasta de Deus. Muito, nos aproxima.
Louis Pasteur*

RESUMO

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIAS SIMPLES PARA A DETERMINAÇÃO DE ESPÉCIES DE INTERESSE FARMACÊUTICO UTILIZANDO TÉCNICAS ELETROANALÍTICAS. O desenvolvimento de metodologias eletroquímicas para a determinação de fármacos vem atraindo a atenção de pequenos laboratórios de análise interessados no uso de procedimentos simples, seletivos, sensíveis e menos onerosos do que os métodos oficiais utilizados pelas farmacopeias. Dessa forma, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de desenvolver métodos para a análise de fármacos, utilizando técnicas eletroanalíticas simples e de baixo custo. Na primeira etapa do trabalho, foram desenvolvidas metodologias baseadas em titulações condutométricas e potenciométricas acompanhadas concomitantemente. Utilizou-se o reagente titulante AgNO_3 padronizado para a determinação dos anti-hipertensivos cloridrato de propranolol e cloridrato de diltiazem, sem tratamento prévio da amostra. Além disso, foram analisadas concentrações das soluções padrões entre $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, alcançando resultados confiáveis em termos de precisão e exatidão com soluções de concentração da ordem de $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ para ambos. De fato, o procedimento proposto mostrou-se muito mais simples e barato e com sensibilidade maior do que a metodologia oficial. Em uma segunda etapa do trabalho, buscou-se o desenvolvimento de um eletrodo íon-seletivo para a determinação do fármaco anti-ulceroso pantoprazol sódico sesquidratado, a partir da modificação de um eletrodo constituído de grafite escolar recoberto com um filme de polipirrol dopado com ânions do fármaco escolhido. Parâmetros tais como pH, eletrólito suporte, densidade de corrente, cargas e tempo de condicionamento foram avaliados a fim de se obter as melhores respostas analíticas. Desse modo, a melhor resposta para o sensor proposto foi obtida utilizando sulfato de amônio $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ em pH 5 como eletrólito suporte. A densidade de corrente aplicada foi de $0,6 \text{ mA cm}^{-1}$ e a carga elétrica de 250 mC. Não foi necessário utilizar tempo de condicionamento para o eletrodo. A curva analítica foi linear no intervalo de concentração de pantoprazol entre $9,90 \times 10^{-6}$ e $1,08 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, com um coeficiente de correlação de 0,9892 ($n = 3$). Todos os procedimentos propostos foram avaliados frente à determinação dos analitos de interesse em amostras reais de formulações farmacêuticas. Em comparação com os procedimentos relatados nas farmacopeias brasileira e britânica, pode-se afirmar que as metodologias aplicadas neste trabalho mostraram-se consideravelmente viáveis, principalmente levando-se em conta a simplicidade e o baixo custo da instrumentação utilizada.

Palavras-chave: Fármacos. Titulação Potenciométrica. Titulação Condutométrica. Eletrodos Modificados Quimicamente.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF SIMPLE METHODS FOR THE DETERMINATION OF SPECIES OF PHARMACEUTICAL INTEREST USING ELECTROANALYTICAL TECHNIQUES. The development of electrochemical methods for the determination of drugs has been attracting the attention of small analytical laboratories interested in utilizing simple, selective, sensitive and less expensive methods than the ones used by official pharmacopoeias. Thus, the present study was conducted in order to develop specific procedures for drug analysis, using simple and low cost electroanalytical techniques. Firstly, methodologies were developed based on potentiometric and conductometric titration simultaneously accompanied. The AgNO_3 standardized titrant reagent was used for the determination of the antihypertensive drugs propranolol hydrochloride and diltiazem hydrochloride with no sample pretreatment. Moreover, concentrations of the standard solutions between $1.00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ to $1.00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ were analyzed, achieving reliable results in terms of precision and accuracy with concentration solutions of about $1.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ for both. In fact, the proposed procedure proved to be much simpler, cheaper and more sensitive than the traditional methodology. In the second stage of this study, an ion-selective electrode was developed in order to determine the anti-ulcer drug pantoprazole sodium, from the modification of an electrode made of school graphite covered with a film of polypyrrole doped with anions of the drug chosen. Parameters such as pH, supporting electrolyte, current density, fillers and conditioning time were evaluated in order to achieve the best analytical responses. In this way, the best response to the proposed sensor was obtained using $1.00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ of ammonium sulfate as supporting electrolyte, at pH 5.0. The applied current density was 0.6 mA cm^{-1} and the electrical charge of 250 mC. There was no need to use conditioning time for the electrode. The calibration curve was linear throughout the concentration range of pantoprazole between 9.90×10^{-6} and $1.08 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, with a correlation coefficient of 0.9892 ($n = 3$). All the proposed procedures were tested based on the determination of analytes in real samples of pharmaceutical formulations. In comparison with the procedures of the Brazilian and British pharmacopoeias, we can conclude that the methods demonstrated in the present study proved to be considerably feasible, especially considering their simplicity and low cost of instrumentation.

Key words: Drugs. Potentiometric titration. Conductometric titration. Chemical Modified Electrodes.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 -	Estrutura química e fórmula molecular do cloridrato de propranolol.....	4
FIGURA 2 -	Estrutura química e fórmula molecular do cloridrato de diltiazem.....	6
FIGURA 3 -	Estrutura química e fórmula molecular do pantoprazol sódico sesquidratado.....	9
FIGURA 4 -	Distribuição percentual da aplicação dos vários métodos instrumentais na determinação de compostos com interesse farmacêutico a partir da década de 80.....	11
FIGURA 5 -	Distribuição percentual da aplicação dos vários métodos eletroanalíticos na determinação de compostos com interesse farmacêutico a partir da década de 80.....	12
FIGURA 6 -	Exemplos de célula de condutância.....	14
FIGURA 7 -	Titulação condutométrica de 25,0 mL de solução (após diluição) de vinagre adulterado com ácido clorídrico, com NaOH 0,1 mol L ⁻¹	15
FIGURA 8 -	Fotografia do sistema utilizado para as determinações condutométricas e potenciométricas dos fármacos cloridrato de propranolol e cloridrato de diltiazem: (1) agitador magnético; (2) condutivímetro; (3) multímetro; (a) bureta de 25,00 mL; (b) eletrodos de prata/cloreto de prata e fio de prata; (c) célula condutométrica e (d) béquer com solução do fármaco.....	26

FIGURA 9 -	(1) Sistema de destilação do pirrol: (a) manta de aquecimento; (b) balão de fundo redondo; (c) condensador; (d) termômetro. (2) polipirrol: (e) antes e (f) depois da destilação.....	27
FIGURA 10 -	(a) eletrodo de grafite escolar com demarcação da área de 1,00 cm a ser eletropolimerizada; (b) eletrodo após eletropolimerização e (c) área específica do eletrodo modificada com polipirrol e solução de pantoprazol $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$	27
FIGURA 11 -	Curvas das titulações condutométricas de cloridrato de propranolol (a) na concentração de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) na concentração de $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) na concentração de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	32
FIGURA 12 -	Curva da titulação condutométrica de cloridrato de propranolol $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como reagente titulante a 23°C	33
FIGURA 13 -	Reação do cloridrato de propranolol com nitrato de prata.....	34
FIGURA 14 -	Curvas das titulações potenciométricas de cloridrato de propranolol (a) na concentração de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) na concentração de $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) na concentração de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	34

FIGURA 15 -	Curva da titulação potenciométrica de cloridrato de propranolol $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como reagente titulante.....	34
FIGURA 16 -	Método (A) da primeira derivada e (B) da segunda derivada da curva original do cloridrato de propranolol para a quantificação do fármaco.....	36
FIGURA 17 -	Titulação potenciométrica e condutométrica do fármaco cloridrato de propranolol $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e AgNO_3 $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$	36
FIGURA 18 -	Curvas das titulações condutométricas de cloridrato de diltiazem (a) na concentração de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) na concentração de $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) na concentração de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	41
FIGURA 19 -	Curva da titulação condutométrica de cloridrato de diltiazem $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como reagente titulante.....	42
FIGURA 20 -	Reação de cloridrato de diltiazem com nitrato de prata.....	43
FIGURA 21 -	Curvas das titulações potenciométricas de cloridrato de diltiazem (a) na concentração de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) na concentração de $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) na concentração de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$	43

FIGURA 22 -	Curva da titulação potenciométrica de cloridrato de diltiazem $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como reagente titulante.....	44
FIGURA 23 -	Titulação condutométrica (a) e potenciométrica (b) do fármaco cloridrato de diltiazem $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e AgNO_3 $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$	45
FIGURA 24 -	Esquema da polimerização do monômero de PPy para formação do filme de polipirrol sobre a superfície do eletrodo de grafite.....	48
FIGURA 25 -	Dopagem do filme de PPy com os íons do fármaco pantoprazol sódico sesquidratado.....	49
FIGURA 26 -	Comportamento do eletrodo modificado frente a diferentes densidades de corrente para o pantoprazol utilizando carga de 200 mC em diferentes tempos.....	50
FIGURA 27 -	Perfil do EISs frente a diferentes cargas para o fármaco pantoprazol utilizando densidade de corrente $0,6 \text{ mA cm}^{-1}$	51
FIGURA 28 -	Tempos de condicionamento para o eletrodo modificado variando desde o uso imediato após eletropolimerização até 24h de condicionamento, utilizando densidade de carga $0,6 \text{ mA cm}^{-1}$ e carga 250 mC em sulfato de amônio pH 5,0.....	52
FIGURA 29 -	Estudo do comportamento do eletrólito suporte, sulfato de amônio, em diferentes valores de pH	54

FIGURA 30 -	Repetibilidade de um eletrodo modificado com PPy para determinação do fármaco pantoprazol sódico sesquidratado (n = 6) utilizando densidade de carga 0,6 mA cm ⁻¹ e 250 mC.....	55
FIGURA 31 -	Reprodutibilidade do eletrodo para determinação do fármaco pantoprazol sódico sesquidratado utilizando densidade de carga 0,6 mA cm ⁻¹ e 250 mC (n = 6).....	56
FIGURA 32 -	Curva analítica com valores de potencial obtidos para diferentes concentrações do fármaco pantoprazol sódico sesquidratado utilizando densidade de carga 0,6 mA cm ⁻¹ e 250 mC.....	57
FIGURA 33 -	Curva analítica com valores de potencial obtidos para diferentes concentrações do fármaco pantoprazol sódico sesquidratado e determinação da concentração de um comprimido comercial do fármaco.....	58

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 -	Especificação dos reagentes e amostras utilizados nos experimentos.....	20
TABELA 2 -	Especificação da instrumentação utilizadas nos experimentos.....	21
TABELA 3 -	Comparação entre os teores conhecidos de cloridrato de propranolol na solução de referência e aqueles determinados empregando-se os métodos condutométrico e o potenciométrico e seus respectivos desvios padrão relativo (DPR).....	31
TABELA 4 -	Efeitos de interferentes potenciais para determinação de cloridrato de propranolol utilizando o método proposto.....	37
TABELA 5 -	Teores de cloridrato de propranolol obtidos empregando-se o método de referência [21] em comparação aos métodos propostos.....	38
TABELA 6 -	Comparação entre os teores conhecidos de cloridrato de diltiazem na solução de referência e aqueles determinados empregando-se os métodos condutométrico e o potenciométrico.....	40
TABELA 7 -	Efeitos de interferentes potenciais para determinação de cloridrato de propranolol utilizando o método proposto.....	46
TABELA 8 -	Teores de cloridrato de diltiazem obtidos empregando-se o método oficial, retirado da referência [21] em comparação aos métodos propostos.....	47

TABELA 9 - Resumo dos parâmetros otimizados para o eletrodo de grafite com filme de polipirrol dopado com pantoprazol sódico sesquiidratado.....	53
TABELA 10 - Teores de pantoprazol sódico sesquiidratado obtidos empregando-se o método de referência [21] em comparação aos métodos propostos.....	59

LISTA DE SIGLAS

a - área de seção transversal
AAS - ácido acetilsalicílico
AINE's - anti-inflamatórios não esteroides
ATP - adenosina trifosfato
AVC - acidente vascular cerebral
BP - British Pharmacopoeia
CLAE - cromatografia em fase líquida de alta eficiência
DDQ - 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona
dec - década
DPR - Desvio padrão relativo
ECA - enzima conversora de angiotensina
EIS - eletrodo íon-seletivo
EP - European Pharmacopoeia
EQM - Eletrodo quimicamente modificado
DPR – desvio padrão relativo
FB - Farmacopeia Brasileira
IBP - inibidores da bomba de prótons
K - condutividade
l - comprimento
LC – ESI – MS/MS - liquid chromatography tandem mass spectrometry with electrospray ionization
LC – MS/MS - liquid chromatography - mass spectrometry/mass spectrometry
L_{corrig.} - condutância corrigida
LD - Limite de detecção
L_{Exp.} - condutância experimental
LQ - Limite de quantificação
MET - metformina
ONPE - orto-nitro-feniloctil-éter
pH - potencial hidrogeniônico
PTZ - pantoprazol sódico sesquidratado
PVC - cloreto de polivinila
Ppy - polipirrol
R - resistência
r² - coeficiente de correlação
SPE - solid-phase extraction
THF - tetrahidrofurano
UFPR – Universidade Federal do Paraná
USP - The United States European Pharmacopoeia
UV-Vis - Ultravioleta-visível
V_a - volume adicionado
V_i - volume inicial
v/v - volume/volume

LISTA DE SÍMBOLOS

α - alfa

β - beta

® - marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS	2
1.1.1 Cloridrato de propranolol	3
1.1.2 Cloridrato de diltiazem	5
1.2 FÁRMACOS ANTIULCEROSOS	8
1.2.1 Pantoprazol sódico sesquiidratado	8
1.3 DOSEAMENTO DE FÁRMACOS	10
1.4 MÉTODOS ELETROANALÍTICOS	12
1.5 CONDUTOMETRIA E POTENCIOMETRIA	12
1.5.1 Condutometria	12
1.5.2 Potenciometria	16
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 MATERIAL E MÉTODOS	20
3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES	20
3.2 INSTRUMENTAÇÃO	21
3.3 PARTE EXPERIMENTAL	22
3.3.1 Preparação dos padrões de propranolol, diltiazem e pantoprazol	22
3.3.2 Preparação das amostras comerciais de propranolol, diltiazem e pantoprazol	22
3.3.2.1 Determinação da massa média dos comprimidos	22
3.3.2.2 Moagem dos comprimidos	23
3.3.3 Preparação das soluções das amostras comerciais	23
3.3.4 Preparação das demais soluções	24
3.3.5 Determinação dos fármacos propranolol e diltiazem por titulação condutométrica com AgNO_3	24
3.3.6 Determinação dos fármacos propranolol e diltiazem por titulação potenciométrica utilizando eletrodo de prata	25
3.3.7 Determinação potenciométrica de pantoprazol sódico sesquiidratado utilizando um eletrodo modificado com filme de polipirrol dopado com pantoprazol	26

3.3.8	Métodos das Farmacopeias para determinação dos fármacos	28
3.3.9	Tratamento dos resíduos gerados	29
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
4.1	DETERMINAÇÃO CONDUTOMÉTRICA E POTENCIOMÉTRICA DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL UTILIZANDO NITRATO DE PRATA COMO TITULANTE	30
4.1.1	Estudos preliminares	30
4.1.2	Curvas condutométricas e potenciométricas obtidas	32
4.1.3	Efeito de interferentes em potencial na determinação de propranolol	37
4.1.4	Análise de amostras reais	38
4.2	DETERMINAÇÃO CONDUTOMÉTRICA E POTENCIOMÉTRICA DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM UTILIZANDO NITRATO DE PRATA COMO TITULANTE	39
4.2.1	Curvas condutométricas e potenciométricas obtidas	41
4.2.2	Efeito de interferentes em potencial para a determinação de cloridrato de diltiazem	46
4.2.3	Análise de amostras reais de diltiazem	47
4.3	DESENVOLVIMENTO DE UM ELETRODO ÍON SELETIVO (EIS) PARA A DETERMINAÇÃO DE PANTOPRAZOL A PARTIR DE FILME DE POLIPIRROL ...	47
4.3.1	Parâmetros avaliados durante a eletropolimerização do pirrol	49
4.3.1.1	Densidade de corrente	49
4.3.1.2	Carga	50
4.3.1.3	Efeito do condicionamento do eletrodo sobre a resposta	51
4.3.2	Efeito do eletrólito suporte e pH	53
4.3.3	Estudo de repetibilidade e reprodutibilidade	55
4.3.4	Curva analítica para determinação de pantoprazol.....	59
4.3.5	Aplicação do sensor em amostras reais	60
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES	62
6	RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	63
	REFERÊNCIAS	64

1 INTRODUÇÃO

A Química Analítica abrange o desenvolvimento de métodos, processos e técnicas aplicadas a diferentes tipos de amostras visando a caracterização ou a quantificação de espécies químicas presentes. Dentre as técnicas analíticas existentes, as eletroanalíticas compreendem um conjunto de métodos quantitativos baseados nas propriedades elétricas de soluções [1].

A possibilidade de relacionar a magnitude de propriedades elétricas, tais como, corrente, potencial e carga em função da concentração da espécie de interesse [2], apresentam algumas vantagens frente a outras técnicas clássicas ou mesmo instrumentais sendo a principal delas a possibilidade de análise direta da amostra, sem a necessidade de etapa de separação ou pré-tratamento. Além disto, a aplicação de métodos eletroanalíticos possibilita a análise em materiais coloridos ou com partículas sólidas dispersas. A análise direta é muito conveniente já que o uso de técnicas espectrofotométricas e/ou métodos ópticos, na maioria das vezes, requerem separações preliminares [3].

O crescente desenvolvimento de metodologias eletroanalíticas para o monitoramento de fármacos em formulações farmacêuticas [4,5] está diretamente relacionado com a simplicidade, sensibilidade, seletividade e custo das análises, quando comparados com outros métodos analíticos como a cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE), por exemplo.

Dentre os problemas que podem ocorrer durante a produção de fármacos podemos citar as contaminações por metais tóxicos, contaminações microbiológicas e problemas quanto à dosagem de medicamentos, em especial comprimidos, pois a correta homogeneização de misturas sólido-sólido de medicamentos pode ser difícil no processo de fabricação [6,7]. Assim, procedimentos que permitam uma rápida, precisa e exata determinação da composição do medicamento se faz necessário.

Os procedimentos que geralmente são adotados para o controle de qualidade nas indústrias farmacêuticas são os denominados “métodos oficiais”, descritos em farmacopeias, e servem de referência para diversos parâmetros de controle de qualidade, tanto para matéria-prima, como a determinação de prováveis impurezas.

Alguns destes métodos oficiais são bastante demorados, susceptíveis a erros e exigem equipamentos de custo relativamente alto. Metodologias que utilizam a espectrofotometria no ultravioleta/visível e/ou cromatografia em fase líquida de alta eficiência para o doseamento de princípios ativos (necessitam de muitas etapas de pré-tratamento da amostra) [1].

Para farmácias de manipulação, tais métodos são bastante caros e são inviáveis para a comercialização em pequena escala. Sob este aspecto, a utilização de uma metodologia simples e, principalmente, de menor custo e rápida, pode antecipar a detecção e correção de eventuais problemas que podem acontecer no momento da produção de produtos farmacêuticos.

No desenvolvimento de metodologias analíticas para farmácias deve-se levar em consideração o custo de aquisição dos equipamentos, bem como os custos de cada análise. Nesse aspecto, os métodos eletroanalíticos se tornam interessantes, já que necessitam de equipamentos relativamente baratos, além de um método facilmente executado, gerando resultados confiáveis desde que a metodologia seja corretamente aplicada [8].

No presente trabalho foram desenvolvidas metodologias analíticas simples empregando as técnicas de condutometria e potenciometria para a quantificação dos anti-hipertensivos, cloridrato de diltiazem e cloridrato de propranolol e do antiulceroso pantoprazol sódico sesquiidratado. Tais substâncias foram escolhidas devido a sua importância no mercado farmacêutico nacional, uma vez que são os medicamentos mais usuais no tratamento da hipertensão e úlcera gástrica [9-11]. Além disso, há um grande interesse no desenvolvimento de métodos analíticos simples e viáveis, principalmente por parte de pequenas farmácias de manipulação, pois auxiliaria nas práticas do controle de qualidade sem, contudo, aumentar o custo do medicamento.

1.1 FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS

A hipertensão arterial representa um sério problema de saúde pública, pela sua elevada prevalência, de 15% a 20% na população adulta e mais de

50% nos idosos [12]. Além disso, junto com o tabagismo, diabetes e dislipidemia constituem-se em importante fator de risco para as doenças cardiovasculares responsáveis por cerca de 30% das mortes [13].

A pressão arterial elevada promove alterações patológicas vasculares e causa hipertrofia do ventrículo esquerdo. Pode levar a acidente vascular cerebral (AVC), infarto e morte súbita. A doença pode ser parcialmente controlada por modificação no estilo de vida, adequação do peso corporal, restrição do consumo de sal na dieta, moderação no consumo de álcool, abstenção do fumo e aumento da atividade física [14]. Se a resposta ao tratamento não farmacológico não for suficiente, este deve ser coadjuvado pela terapia com fármacos anti-hipertensivos.

Os fármacos anti-hipertensivos podem ser divididos em agentes anti-hipertensivos iniciais e suplementares.

Dentre os iniciais, incluem-se: diuréticos, inibidores adrenérgicos (α e β bloqueadores), inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), antagonistas do cálcio e antagonistas do receptor da angiotensina II [15]. O cloridrato de propranolol faz parte dos β bloqueadores adrenérgicos não seletivos. É uma das substâncias proibidas nos Jogos Olímpicos, provavelmente porque atua no controle do “medo do palco” e tremores [16].

Os suplementares são os antagonistas α_2 de ação central, antagonistas adrenérgicos de ação periférica e os vasodilatadores diretos [14]. Estudos anteriormente publicados conduzem a dados que mostram evidências claras de uma menor incidência dos principais distúrbios cardiovasculares após o tratamento da hipertensão com fármacos anti-hipertensivos [17]. O cloridrato de diltiazem faz parte dos antagonistas dos canais de cálcio, portanto, possui a capacidade de inibir a entrada desse íon [18].

1.1.1 Cloridrato de propranolol

O cloridrato de propranolol, cloridrato de 1-[(1-metiletil)amino]-3-(1-naftaleniloxi)-2-propanol (1:1), FIGURA 1, é descrito na quinta edição da Farmacopeia Brasileira (FB) [19], bem como nas Farmacopeias Americana (The United States Pharmacopeia - USP) [20], Britânica (British Pharmacopoeia

- BP) [21] e Europeia (European Pharmacopoeia – EP) [22]. Trata-se de um pó branco ou quase branco, inodoro, de sabor amargo e aspecto cristalino ou amorfo. Solúvel em água e etanol, pouco solúvel em clorofórmio, insolúvel em éter etílico. Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 101,5% de $C_{16}H_{21}NO_2.HCl$, em relação à substância dessecada e a massa molar é 295,80 [19].

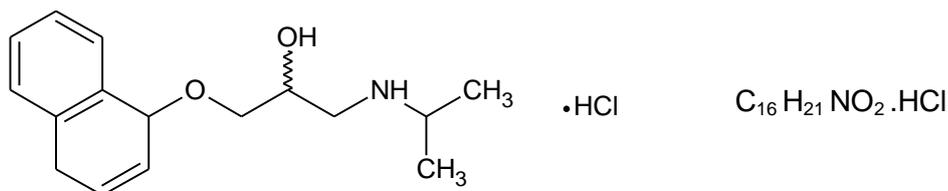


FIGURA 1 - Estrutura química e fórmula molecular do cloridrato de propranolol.

É um medicamento utilizado para o tratamento de hipertensão arterial e, normalmente, comercializado em comprimidos de 10, 40 ou 80 mg do princípio ativo por comprimido. Também pode ser usado intravenosamente. O custo dos comprimidos de cloridrato de propranolol pode ser considerado baixo, o que torna um medicamento amplamente receitado por médicos e de fácil acesso a população pelo Programa do Ministério da Saúde, *Aqui Tem Farmácia Popular*, que os oferece gratuitamente [23].

Os métodos oficiais para doseamento sugerido pela FB são titulação em meio não aquoso e cromatografia em fase líquida de alta eficiência.

Na literatura são relatados vários métodos para determinação do cloridrato de propranolol, os métodos de separação como os cromatográficos em fase líquida [24-25] e por eletroforese capilar [32]; os espectroscópicos como os espectrofotométricos [26], espectrofluorimétricos [27], de absorção atômica [28], fosforescência [29]; e os eletroquímicos como voltametria [30] e polarografia [31] entre outros.

Partani *et. al.* [24] desenvolveram e validaram um método para a determinação simultânea de propranolol livre e total e seu metabólito, 4 - hidroxipropranolol, em plasma humano. Os analitos foram simultaneamente extraídos a partir de 0,30 mL de plasma humano utilizando a extração em fase sólida. O método tem um limite de quantificação (LQ) de $0,20 \text{ ng mL}^{-1}$ para

ambos os analitos com os limites de detecção (LD) 0,05 e 0,10 ng mL⁻¹ para propranolol e 4 hidroxipropranolol, respectivamente. O ensaio foi linear ao longo de um intervalo 0,20 - 135,00 ng mL⁻¹ para propranolol livre e 0,20 - 25,00 ng mL⁻¹ para 4-hidroxipropranolol livre e 1,00 - 500,00 ng mL⁻¹ para propranolol total e 1,00 - 360,00 ng mL⁻¹ para 4 hidroxipropranolol total, com coeficiente de determinação maior do que 0,99 para ambos os analitos. As recuperações da extração foram entre > 96% e > 64%, em média, para propranolol e 4 hidroxipropranolol, respectivamente.

Álvarez *et. al.* [29] utilizaram a combinação de polímeros de impressão molecular por fosforescência em temperatura ambiente para a determinação do β-bloqueador propranolol em amostras de urina. A substância analisada exibiu fosforescência intensa, com máximo em 520 nm para uma excitação no comprimento de onda de 314 nm. Sob condições experimentais otimizadas, o limite de detecção foi de 22 µg L⁻¹ de propranolol, o limite de quantificação foi de 73 µg L⁻¹ de propranolol e a resposta foi linear, pelo menos, até 1 mg L⁻¹ de propranolol.

El-Ries *et. al.* [31] desenvolveram um método para a determinação do propranolol na forma de comprimido. Propranolol reage com ácido nítrico formando nitropropranolol e então foi analisado por polarografia de pulso diferencial em soluções tampão de Britton-Robinson em diferentes valores de pH no intervalo de 2,0 - 12,0. O nitropropranolol deu origem a um sinal polarográfico com boa resolução em pH 2,0. Foi obtida uma curva analítica linear no intervalo de $5,00 \times 10^{-7}$ – $5,00 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹ e um limite de detecção de 5 nmol L⁻¹. O desvio padrão relativo foi de 1,95% (n = 10) em $5,00 \times 10^{-6}$ mol L⁻¹.

1.1.2 Cloridrato de diltiazem

Ainda não descrito na Farmacopeia Brasileira [19], o cloridrato de diltiazem, cloridrato de (2S,3S)-3-acetiloxi-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-di-hidro-2-(4-metoxifenil)-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona (1:1), FIGURA 2, possui monografia oficial nas Farmacopeias USP [20], BP [21], EP [22]. Tem por característica ser um pó cristalino, branco, facilmente solúvel em água, cloreto

de metileno e metanol, pouco solúvel no etanol. Possui de 98,5% a 101,0% da substância dessecada e com massa molar de 451,0 [21].

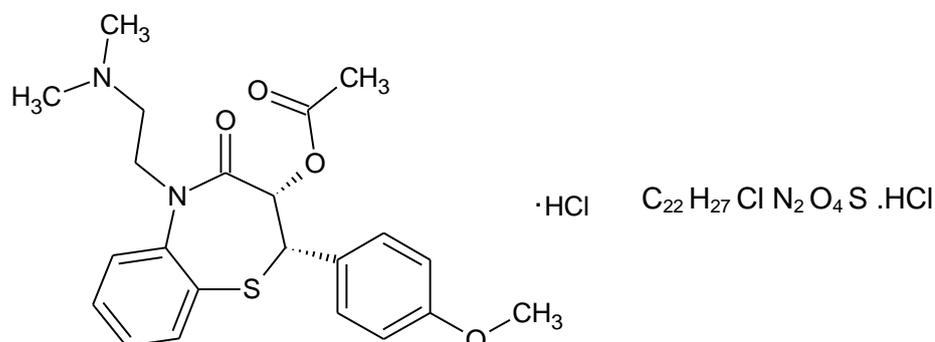


FIGURA 2 - Estrutura química e fórmula molecular do cloridrato de diltiazem.

É um medicamento utilizado para o tratamento de hipertensão arterial, angina de peito e arritmias cardíacas e, normalmente, é comercializado em comprimidos revestidos de 30 ou 60 mg e cápsulas gelatinosas de liberação prolongada de 90, 120, 240 e 300 mg do princípio ativo, podendo chegar a dosagem máxima ao dia de 360 mg do princípio ativo. Também pode ser usado por injeção intravenosa direta ou por infusão intravenosa com 25 ou 50 mg de diltiazem [33].

Os métodos oficiais para doseamento sugerido pela BP são titulação com determinação do ponto final potenciometricamente. O método utiliza como reagente titulante o ácido perclórico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e o fármaco é dissolvido em meio de anidrido acético e ácido fórmico anidro. Cada mL de $HClO_4$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ corresponde a 45,1 mg de cloridrato de diltiazem.

Na literatura podem ser encontrados vários métodos para determinação do cloridrato de diltiazem, como os cromatográficos em fase líquida [34-35] e gasosa [36]; os espectroscópicos como os espectrofotométricos [37-38], e os eletroquímicos como a voltametria [39] entre outros.

Dasandi *et al.* [35] desenvolveram e validaram um método para determinar diltiazem e mais dois metabólitos (N-desmetildiltiazem e O-desacetildiltiazem) por LC-ESI-MS/MS em plasma humano. Foi utilizada uma coluna de C_{18} em modo de eluição isocrático e vazão de $0,2 \text{ mL min}^{-1}$ utilizando

acetato de amônio:acetonitrila (25:75, v/v) como fase móvel. O método foi validado na faixa de concentração 0,48 – 639,9 ng mL⁻¹ para o diltiazem e 0,24 – 320,1 para N-desmetildiltiazem e 0,24 – 320,7 ng mL⁻¹ para O-desacetildiltiazem, com limites de quantificação de 0,48 ng mL⁻¹ para o diltiazem e 0,24 ng mL⁻¹ para os metabólitos. A recuperação foi de 77,4%, 76,0%, 74,5% e 74,1% para diltiazem, N-desmetildiltiazem, O-desacetildiltiazem e Ziprasidone (padrão interno), respectivamente. O tempo de corrida total foi de somente 2 min.

Sanchez *et al.* [38] utilizaram uma microextração líquido-líquido sem separação das fases num sistema de fluxo para determinação do diltiazem. O procedimento foi baseado na formação de um par iônico entre o fármaco e o corante azul de bromotimol em pH 3,5. Para a determinação foi utilizado um tubo de vidro acoplado a um espectrofotômetro de fibras óticas. Uma resposta linear foi observada entre 9 e 120 µmol L⁻¹ com um limite de detecção de 0,9 µmol L⁻¹ (nível de confiança de 99,7%). O coeficiente de variação (n = 10) foi estimado como 0,6%, taxa de amostragem foi de 78 determinações por hora e eficiência de extração foi de 61%. Cerca de 30 µg de azul de bromotimol foi consumido e o volume de resíduos foi de 380 µL por determinação. O resultado para amostras obtido está em concordância com o procedimento de referência com nível de confiança de 95%.

Ghandour *et al.* [39] utilizaram voltametria adsortiva catódica para determinar diltiazem em meio tamponado (fosfato, pH 7,0) sendo observado um pico de redução de -1,72 V vs. Ag/AgCl. A resposta foi otimizada com respeito ao pH, tempo de pré-concentração, possíveis interferências, potencial de acumulação e eletrólito suporte. O método proposto foi aplicado para determinar o fármaco em urina e em formulação farmacêutica. O limite de detecção foi de 1,00 x 10⁻⁸ mol L⁻¹ (4,5 ng mL⁻¹) usando um tempo de pré-concentração de 180 s, enquanto que o limite de detecção foi de 6,00 x 10⁻⁹ mol L⁻¹ (2,7 ng mL⁻¹).

1.2 FÁRMACOS ANTIULCEROSOS

A prevalência de úlceras e suas complicações tornam-se mais frequentes com o envelhecimento [40,41], o que pode estar relacionado à infecção por *Helicobacter pylori*, à utilização de álcool, ao fumo ou também ao uso continuado de ácido acetilsalicílico (AAS) e de outros anti-inflamatórios não esteroides (AINE's), [42-47]. O uso de aspirina em baixas doses vem aumentando com o objetivo de prevenir condições trombóticas. Tal terapia, realizada de forma isolada ou em combinação com AINE's, pode levar a sérios riscos de hemorragias no trato gastrointestinal [48,49].

Os fármacos antiulcerosos, como o pantoprazol sódico sesquidratado, são agentes redutores da secreção ácido-péptica e pertencem aos denominados inibidores da bomba de prótons (IBP). Esses agentes são caracterizados por atuarem na última etapa da secreção de ácido clorídrico inibindo a bomba H^+/K^+ -ATPase, localizada nas microvilosidades dos canalículos secretores da célula parietal gástrica. Essa ação redutora da secreção ácido-péptica é independente do estímulo inicial (gastrina, histamina, acetilcolina), que ativa o mecanismo intracelular secretor nas células parietais. A bomba de prótons expulsa íons hidrogênio (H^+) até os canalículos e introduz íons potássio (K^+); finalmente o ácido clorídrico é formado mediante a entrada de quantidades equimolares de íons cloreto (Cl^-) nesses canalículos [50].

1.2.1 Pantoprazol sódico sesquidratado

Descrito na Farmacopeia Brasileira [19], o fármaco pantoprazol, sal de sódio do 6-(difluormetoxi)-2-[[[(3,4-dimetoxi-2-piridinil)metil]sulfinil]-1*H*-benzimidazol hidratado (2:2:3) (FIGURA 3) possui monografia oficial nas EP [22], BP [21] e USP [20]. É um pó cristalino branco ou quase branco, higroscópico, facilmente solúvel em água, metanol e etanol. Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{16}H_{14}F_2N_3NaO_4S$, em relação à substância anidra e massa molar 405,35 [22].

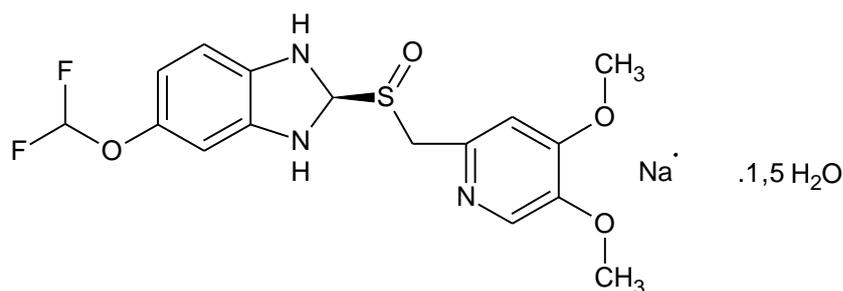


FIGURA 3 - Estrutura química e fórmula molecular do pantoprazol sódico sesquiidratado.

Os métodos oficiais para doseamento sugerido pela FB são titulação com determinação do ponto final potenciométricamente e cromatografia em fase líquida de alta eficiência. O método potenciométrico utiliza como reagente titulante o ácido clorídrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e o fármaco é dissolvido em meio de etanol. Deve-se realizar ensaio em branco e efetuar as correções necessárias. Cada mL de HCl $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ corresponde a $40,535 \text{ mg}$ de pantoprazol sódico sesquiidratado.

Na literatura são encontrados vários métodos para determinação do pantoprazol sódico, como os cromatográficos (em fase líquida) [51], os espectroscópicos (espectrofotométricos)[52], os eletroquímicos (voltametria), [53 - 54] entre outros.

Bhaskara *et. al.* [51] desenvolveram um método sensível e seletivo para determinar pantoprazol sódico (PTZ) na urina humana utilizando cromatógrafo em fase líquida acoplado a um espectrômetro de massa (LC- MS-MS). Após processo de extração em fase sólida (SPE), a amostra de urina foi analisada numa coluna C_{18} , interfaceado com um espectrômetro triplo quadrupolo de massa. A fase móvel consistiu de acetonitrila:água (90:10, v/v). O método foi linear na faixa de concentração de $1,0 - 100,0 \text{ ng mL}^{-1}$. O limite de quantificação foi de 1 ng mL^{-1} . A precisão determinada em três concentrações ($8,0, 50,0$ e $85,0 \text{ ng mL}^{-1}$ PTZ) foi de $\pm 1,25\%$, em termos de erro relativo.

Moustafa [52] desenvolveu procedimentos espectrofotométricos para determinação de lansoprazol (I) e pantoprazol de sódio sesquiidratado (II). Dois

métodos foram baseados em reação de transferência de carga de complexos destas drogas, onde atuam como n-doadores, com o 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona (DDQ) e com o iodo. Um terceiro método foi investigado dependendo da formação do complexo ternário com eosina e cobre (II). Os produtos coloridos foram quantificados espectrofotometricamente utilizando bandas de absorção em 457 nm para DDQ (Método A) em 293 e 359 nm para iodo (Método B) e em 549 nm usando formação do complexo ternário (Método C), para ambas as drogas. Para pantoprazol, as concentrações foram 10-60, 17,7-141,6 e 4,3-25,9 $\mu\text{g mL}^{-1}$ com a recuperação percentual média de 99,51, 98,97, 99,84 e 99,46% e desvio padrão relativo de 0,53, 1,21, 0,65, 0,81% para os três métodos mencionados, respectivamente. Os métodos propostos foram aplicados com sucesso para a análise das drogas citadas, quer na forma pura ou em formulações farmacêuticas.

Radi [54] utilizou voltametria de pulso diferencial para a determinação de pantoprazol em formas de dosagem farmacêuticas e plasma humano, usando um eletrodo de carbono vítreo. A melhor resposta voltamétrica foi alcançada por um eletrodo de carbono vítreo em solução tampão Britton-Robinson pH 5,0, submetido a uma velocidade de varredura de 20,0 mV s^{-1} e uma amplitude de pulso de 50,0 mV. Este procedimento eletroanalítico foi capaz de determinar o pantoprazol na faixa de concentração $6,0 \times 10^{-6} - 8,0 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$. O limite de detecção e o limite de quantificação foram de $4,0 \times 10^{-7}$ e $9,0 \times 10^{-7} \text{ mol L}^{-1}$, respectivamente.

1.3 DOSEAMENTO DE FÁRMACOS

Para a análise quantitativa de fármacos veiculados em formulações farmacêuticas, as diversas farmacopeias referem-se frequentemente a várias etapas preliminares de preparação das amostras que incluem vários processos extrativos repetidos consecutivos [55]. Este procedimento visa conseguir a separação do fármaco, do veículo ou base da formulação ou, ainda, de eventuais substâncias ativas presentes.

Apesar disso, a preparação da amostra, na maioria das situações, leva a interferências. O elevado número de manipulações envolvidas aumenta também a probabilidade da ocorrência de erros aleatórios. Neste sentido, as determinações são menos exatas e/ou precisas, além de não se adequarem às análises de rotina requeridas no controle da qualidade de um produto fabricado.

Não é muito surpreendente que estes métodos clássicos de separação tenham dado lugar em numerosas monografias apresentadas nas mais recentes edições das farmacopeias aos métodos instrumentais correspondentes. As técnicas instrumentais de separação são também aquelas que predominam na escolha dos vários investigadores, em trabalhos dedicados à análise de formulações farmacêuticas. A FIGURA 4 representa a distribuição das principais técnicas instrumentais utilizadas na quantificação de espécies de interesse farmacêutico [56].

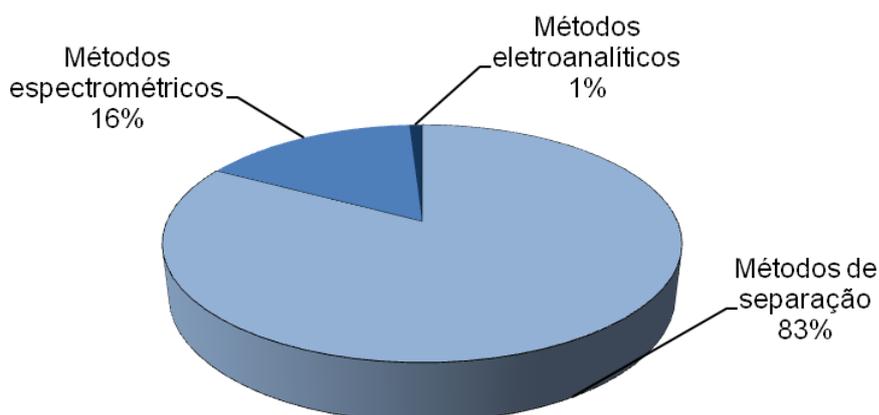


FIGURA 4 - Distribuição percentual da aplicação dos vários métodos instrumentais na determinação de compostos com interesse farmacêutico a partir da década de 80.

De acordo com as metodologias oficiais, as principais maneiras de se proceder o doseamento de fármacos se restringem a três métodos: cromatografia de alta eficiência, espectrometria de ultravioleta-visível (UV-Vis) e volumetria de neutralização ou de oxirredução [19].

1.4 MÉTODOS ELETROANALÍTICOS

No que se refere aos métodos eletroanalíticos, a sua citação nas monografias das farmacopeias restringe-se habitualmente ao eletrodo de vidro para a determinação do pH das soluções. Comparativamente aos métodos de separação e espectrais, estes métodos eletroanalíticos são os menos referidos na literatura para a análise de formulações farmacêuticas (FIGURA 4). A FIGURA 5 mostra a distribuição das técnicas eletroanalíticas aplicadas na determinação de espécies de interesse farmacêutico [56].

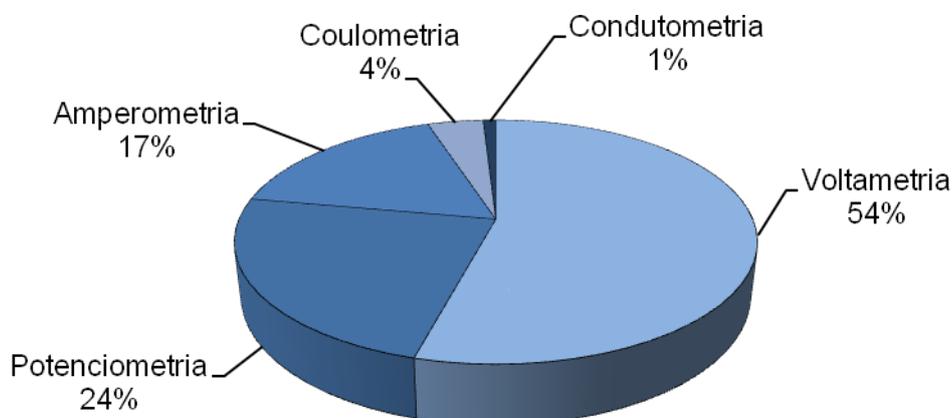


FIGURA 5 - Distribuição percentual da aplicação dos vários métodos eletroanalíticos na determinação de compostos com interesse farmacêutico a partir da década de 80.

1.5 CONDUTOMETRIA E POTENCIOMETRIA

1.5.1 Condutometria

A condutometria constitui-se numa técnica baseada nas medidas de condutância das soluções iônicas. Essa condutância, entretanto, resulta da soma da contribuição individual de cada íon presente na solução, e essa contribuição de cada íon não pode ser distinguida do valor mensurado. A concentração iônica é inversamente proporcional à resistência do meio, e

diretamente relacionada à medida de corrente. A corrente tem caráter capacitivo e é gerada pela aplicação de um potencial alternado, independentemente, portanto de reações específicas ao nível de um eletrodo. Por essas razões, a condutometria, embora apresente alta sensibilidade, falha pela ausência de seletividade [57].

A condutometria é uma técnica muito útil para a determinação em sistemas binários de eletrólitos, como para a determinação de solubilidade de dois compostos pouco solúveis. Já no caso de sistemas de multicomponentes, a condutometria é usada quando se conhece a composição qualitativa da solução (invariável), como, por exemplo, na análise de soluções em correntes de processo contínuo ou descontínuo. A condutometria direta é importante na determinação do teor total de íons (grau de mineralização) das águas naturais e no controle de qualidade de água, após purificação ou destilação [58].

Na medida de condutância de um eletrólito, a propriedade determinada, na prática, é a resistência, obtendo-se a condutividade através da EQUAÇÃO 1:

$$k = \frac{l}{R a} \quad (1)$$

em que:

K = condutividade;

l = comprimento,

R = resistência e

a = área de seção transversal dos eletrodos

A solução eletrolítica é colocada numa célula de condutância, que constitui um ramo de um circuito tipo ponte de Wheatstone. A FIGURA 6 mostra dois exemplos de células de condutância.

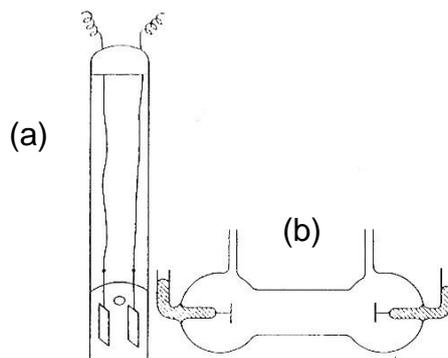


FIGURA 6 - Exemplos de célula de condutância: (a) célula de emersão e (b) célula em fluxo.

FONTE: DENARO, (1974) [59].

As células de condutância são em geral recipientes de vidro contendo dois eletrodos montados a uma distância fixa um do outro. Assim para medirmos a resistência de uma solução fracamente condutora, usamos eletrodos pouco afastados um do outro e de seção transversal de área grande. Para uma solução condutora mais forte, os eletrodos poderão ser menores e mais afastados um do outro. Para se reduzir ao mínimo quaisquer interferências nas medidas, utiliza-se emprego de corrente alternada nos eletrodos, cerca de 1000 Hz, para que não ocorra acumulação dos produtos de eletrólise e utiliza-se eletrodos de platina platinizados para evitar-se outros efeitos residuais. A célula de condutância varia acentuadamente com a temperatura, portanto deve ser mantida sempre o controle com termostato [59].

A condutividade de uma solução está relacionada a sua resistência. Em medidas de condutância, l pode ser tomada como distância entre os eletrodos da célula e a como área dos eletrodos. Para uma dada célula, l e a serão constantes, e l/a é conhecida como a constante da célula. A constante da célula pode ser medida diretamente, mas é mais comum deduzir seu valor, medindo-se na célula a resistência de um eletrólito de resistividade conhecida, com certa precisão. As soluções mais empregadas para tal são as de cloreto de potássio [59].

A titulação condutométrica acompanha a variação da condutância no curso da titulação. O ponto final é assinalado por uma descontinuidade na curva de condutância vs. o volume de titulante. A maneira como varia a condutância até o ponto de equivalência depende das mobilidades relativas das espécies presentes na solução [60].

A titulação condutométrica está baseada nas alterações que ocorrem próximo do ponto estequiométrico da titulação, relacionando a condutividade e a quantidade de titulante adicionada (ponto de inflexão). É utilizada, em particular para a titulação de soluções contendo agentes redutores ou oxidantes, ou ácido-base em soluções com coloração ou turvação, ou ainda, em titulações com amostras contendo ácidos fortes e fracos, como na FIGURA 7 a seguir, onde o primeiro ponto de inflexão indica o ponto de equivalência do ácido forte e o segundo ponto do ácido fraco.

Martins *et al.* [61] determinaram ácido acético em amostras de vinagre adulteradas com ácido clorídrico, usando uma integração de titulações potenciométricas e condutométricas, em que pode-se determinar as concentrações dos dois ácidos, sem a interferência mútua nas amostras adulteradas.

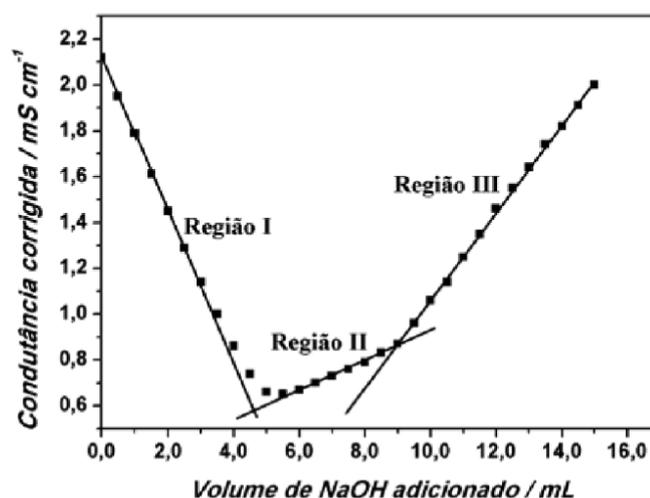


FIGURA 7 - Titulação condutométrica de 25,0 mL de solução (após diluição) de vinagre adulterado com ácido clorídrico, com NaOH 0,1 mol L⁻¹
FONTE: MARTINS, (2010) [61].

Fatibello-Filho *et al.* [62] desenvolveram um método simples e rápido para a determinação condutométrica do fármaco captopril utilizando solução de sulfato de cobre (II) como titulante. O método foi baseado na reação química entre o captopril e íons Cu²⁺ propiciando a formação de um precipitado. A condutância da solução foi monitorada em função do volume de titulante adicionado. O método foi aplicado com sucesso para a determinação de captopril em três formulações farmacêuticas. A estimativa do desvio padrão relativo durante seis sucessivas medições foi menor do que 0,5%. Foram

obtidos valores de recuperação das três amostras, variando de 97,7-103%. Pesquisadores do mesmo grupo desenvolveram um método de titulação condutométrica simples, preciso, rápido e de baixo custo para a determinação de cloridrato de metformina (MET) em produtos farmacêuticos utilizando nitrato de prata como titulante. O método foi baseado na reação química entre a molécula de cloridrato de metformina e íons Ag^+ , obtendo-se o precipitado de $\text{AgCl}_{(s)}$. O método foi aplicado para determinação do MET em três formulações farmacêuticas e os resultados obtidos com o método proposto estão em concordância com os resultados obtidos utilizando um método oficial da Farmacopeia Britânica, em um nível de confiança de 95% [63].

1.5.2. Potenciometria

A potenciometria é uma das técnicas eletroanalíticas mais conhecidas, empregada inicialmente para medidas do valor do pH [64].

A definição da potenciometria pode ser resumida como uma técnica instrumental que visa a determinação das atividades de espécies iônicas em solução, utilizando-se as medidas de diferenças de potenciais entre dois eletrodos. Um destes eletrodos é o de referência e o outro é chamado de indicador, sendo ambos imersos em solução do analito. O potencial do eletrodo indicador é dependente da concentração do íon cuja atividade deve ser determinada. A obtenção do potencial desse indicador é conseguida combinando-o com o eletrodo de referência, o que resulta em uma pilha cuja força eletromotriz pode ser medida. O potencial de uma célula eletroquímica reversível está diretamente relacionado com a atividade dos íons envolvidos na reação da célula, pela EQUAÇÃO 2, de Nernst:

$$E = E^0 - \frac{RT}{nF} \ln \left(\frac{a_{red}}{a_{oxi}} \right) \quad (2)$$

em que:

E^0 = potencial-padrão do eletrodo (depende do íon em questão)

R = constante universal dos gases

T = temperatura absoluta

n = número de mol de elétrons envolvidos

F = constante de Faraday

a_{red} = atividade da espécie reduzida

a_{oxi} = atividade de espécie oxidada

Esta equação fornece uma relação simples entre o potencial relativo de um eletrodo e a atividade das espécies iônicas correspondentes em solução. Desta forma, a medida do potencial de um eletrodo reversível permite calcular a atividade de um componente da solução [65].

A inerente simplicidade da aparelhagem torna-a particularmente indicada para processos de controle analítico, como alternativa às outras metodologias convencionais, morosas e dispendiosas [66] e os principais componentes da potenciometria são os eletrodos, pois são eles que refletem na atividade iônica a partir do potencial de cela.

A potenciometria indireta ou titulação potenciométrica é geralmente utilizada para a obtenção de dados experimentais utilizados para estimar concentrações ou constantes de equilíbrio desconhecidas. Para o caso de determinação de constantes de equilíbrio o processo consiste no ajuste de uma curva de titulação teórica aos dados experimentais gerados. Na determinação de constantes de formação são frequentemente realizadas titulações potenciométricas automáticas, onde o eletrodo de referência mais utilizado, devido à sua simplicidade de preparação e constância de potencial é o eletrodo de calomelano.

As titulações potenciométricas apresentam vantagens sobre as titulações comuns (que utilizam indicadores), como: o ponto final da titulação pode ser determinado com exatidão mesmo em condições que impeçam o emprego de indicadores coloridos; elimina o erro do indicador com relação ao ponto de viragem; pode-se utilizar numerosas reações que não poderiam ser utilizadas na titulação convencional, por falta de um indicador adequado; pode-se determinar três ou mais espécies em mistura em uma única titulação.

Os sensores potenciométricos, de modo geral, oferecem diversas vantagens, como tempos de resposta pequenos, robustez, seletividade e

sensibilidade, proporcionando uma importante metodologia que pode ser aplicada diretamente a controle de processos e ensaios clínicos e industriais [67,68].

O emprego de eletrodos íons-seletivos (EISs) em análises de produtos farmacêuticos tornou possível a medida da atividade (concentração efetiva) de vários íons orgânicos, em muitos casos sem separação prévia do analito na amostra, sendo necessário apenas uma etapa de pré-diluição ou dissolução de amostras sólidas no solvente apropriado, seguida do ajuste no valor do pH e força iônica [69].

Os EISs são construídos a partir de membranas (cristalinas ou não cristalinas) com características particulares que são incorporadas sobre um substrato condutor, conferindo ao conjunto propriedades que permitem a determinação de espécies de interesse com boa sensibilidade e seletividade [70].

Tescarollo-Dias *et al.* [71] efetuaram a determinação quantitativa da furosemida utilizando eletrodos íon-seletivos. Neste trabalho foi construído um EIS para furosemida incorporando o par iônico complexo furosemida-tricaprilmetilamônio numa membrana de PVC com o plastificante. O eletrodo apresentou resposta linear na faixa de concentração de $1,6 \times 10^{-4}$ a $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹.

Kubota *et al.* [72] determinaram heparina em fármacos. O método é baseado em medidas potenciométricas em fase estacionária com uso de eletrodo íon seletivo. A membrana sensível do eletrodo é constituída basicamente de cloreto de polivinila (PVC), tetrahidrofurano (THF), orto-nitro-feniloctil-éter (ONPE) como plastificante e o trocador iônico cloreto de tricaprilmetilamônio. Foi obtida sensibilidade de 26,5 mV por década de concentração, faixa linear entre 0,02 a 0,42 U mL⁻¹ (unidades por mililitro) e um tempo de resposta de 10 s. Na determinação de heparina no fármaco uma diferença aproximada de 14% em relação ao valor nominal foi encontrado. O método aqui proposto mostra-se satisfatório pela rapidez e simplicidade que oferece.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo principal deste trabalho é de desenvolver metodologias analíticas simples visando a determinação de espécies de interesse farmacêutico empregando técnicas eletroanalíticas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver e validar metodologias analíticas para a quantificação dos fármacos cloridrato de propranolol, cloridrato de diltiazem e pantoprazol sódico sesquiidratado por métodos eletroanalíticos simples;
- Comparar e discutir o uso de diferentes metodologias analíticas para a quantificação destas espécies;
- Aplicar a metodologia proposta para a determinação destas espécies em amostras reais de formulações farmacêuticas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REAGENTES E SOLUÇÕES

Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico ou semelhante, sem terem sido submetidos a qualquer purificação adicional. Os reagentes utilizados nos experimentos estão especificados na TABELA 1:

TABELA 1 - Especificação dos reagentes e amostras utilizados nos experimentos.

Reagente	Marca	Pureza
AgNO ₃	Merck	99,8%
NaCl	Vetec	99,3%
Amido	Merck	PA
cloridrato de propranolol	Galena	99 a 101%
cloridrato de diltiazem	Genix	98 a 102%
Pantoprazol sódico	Alquimia	98 a 102%
KCl	Fluka	99,5%
Amostra de cloridrato de propranolol	Medley [®]	80 mg/comprimido
Amostra de cloridrato de diltiazem	EMS [®]	60 mg/comprimido
Amostra de pantoprazol sódico	EMS [®]	40 mg/comprimido
Etanol	Vetec	PA
NaOH	Mallinckrodt	PA
HCO ₂ H	Carlo Erba	85%
(CH ₃ CO) ₂	Merck	99%
HClO ₄	Merck	PA
C ₄ H ₅ N	Acros	99%
(NH ₄) ₂ SO ₄	Biotec	99%
KNO ₃	Reagen	PA
HNO ₃	Merck	PA
Na ₂ HPO ₄ .7H ₂ O	Synth	98-102%
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	Synth	98-102%
D-glucose	Synth	PA

A água utilizada para a preparação das soluções aquosas foi destilada e deionizada. As soluções aquosas mais concentradas foram preparadas por pesagem rigorosa dos sólidos correspondentes e posteriormente diluídas em água. Soluções com concentrações menores foram preparadas por diluição rigorosa da solução-mãe.

Todas as soluções foram preparadas em balões volumétricos, com diferentes capacidades. Para as medições de volumes exatos iguais ou superiores a 5,00 mL foram usadas pipetas volumétricas de vidro. Para volumes inferiores recorreu-se a pipetas automáticas de volumes reguláveis.

3.2 INSTRUMENTAÇÃO

Os equipamentos utilizados nos experimentos estão especificados na TABELA 2:

TABELA 2 - Especificação da instrumentação utilizadas nos experimentos.

Equipamento	Marca	Modelo	Obs.
Balança analítica	Mettler [®]	AL204	±0,1 mg
Balança analítica	Digimed [®]	KN500	± 0,01 g
pHmetro	Metrohm [®] ,	780	Ag/AgCl, KCl 3,0 mol L ⁻¹
Lavadora ultrassônica	Sonica [®] .	-	-
Multímetro	Icel Manaus [®]	MD 6110	200 MOhm
Condutímetro	Oakton [®]	COM 500 Series	l/a = 1
Potenciostato/galvonostato	μAutolab [®]	Type III	-

Os eletrodos utilizados para determinação de cloreto de propranolol e diltiazem foram o de referência de Ag/AgCl KCl 3 mol L⁻¹ e indicador de fio de prata. Os eletrodos indicadores para a determinação de pantoprazol foram de grafite modificado com filme de polipirrol e o de referência Ag/AgCl KCl 3 mol L⁻¹

¹. Para os métodos comparativos foram utilizados eletrodo de vidro combinado Ag/AgCl KCl 3,0 mol L⁻¹.

A coleta de dados do potenciostato/galvanostato foi obtida com auxílio do software GPES 4.9 EcoChemie[®], e os dados coletados foram tratados com o software Origin PRO8[®].

3.3 PARTE EXPERIMENTAL

3.3.1 Preparação dos padrões de propranolol, diltiazem e pantoprazol

Os padrões das substâncias analisadas foram obtidos em farmácias de manipulação da cidade de Curitiba com seus respectivos laudos de pureza. A solução estoque de cloridrato de propranolol, como também, as soluções estoques de cloridrato de diltiazem e pantoprazol sódico sesquidratado, na concentração de $1,00 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ foram preparadas dissolvendo-se uma massa adequada dos sais em água destilada. As concentrações de $1,00 \times 10^{-2}$ e $1,00 \times 10^{-3}$ mol L⁻¹ foram preparadas diluindo-se a solução estoque $1,00 \times 10^{-1}$ mol L⁻¹ dos respectivos fármacos.

3.3.2 Preparação das amostras comerciais de propranolol, diltiazem e pantoprazol

3.3.2.1 Determinação da massa média dos comprimidos

Para a determinação da quantidade do princípio ativo por comprimido, foi necessária, num primeiro momento, a obtenção da massa média de cada lote dos comprimidos. Seguiu-se o procedimento descrito pela Farmacopeia Brasileira [19], que consiste na pesagem conjunta de 20 comprimidos

(revestidos ou não revestidos) da amostra em estudo para a determinação da massa média. Após, verificou-se que todas as amostras estavam dentro dos parâmetros limites permitidos pela FB que é de $\pm 5\%$ para comprimidos com massa superior a 250 mg [19]. Esse estudo mostra se o lote do medicamento está adequado ou não. A massa média dos comprimidos do cloridrato de propranolol foi de aproximadamente 0,28006g, a do cloridrato de diltiazem foi de 0,30212g e a do pantoprazol sódico sesquidratado foi de 0,22774g.

Atender às normas de qualidade da FB evita que o estabelecimento que manipula insumos farmacêuticos sofra sanções aplicadas pelo órgão de Vigilância Sanitária.

3.3.2.2 Moagem dos comprimidos

Os 20 comprimidos pesados para a obtenção da massa média de cada amostra foram moídos com ajuda de um almofariz e pistilo de cerâmica. A diminuição do tamanho de partícula propicia um aumento da homogeneidade da amostra, que é um aspecto importante na repetibilidade e reprodutibilidade das medidas.

Em comprimidos revestidos, como no caso do fármaco pantoprazol sódico revestido com polímero gastrorresistente, a homogeneização da amostra foi feita em pH 5,0 e recorreu-se a agitação em banho de ultrassom durante cerca de 20 minutos.

3.3.3 Preparação das soluções das amostras comerciais

As amostras comerciais utilizadas para a validação das metodologias propostas foram obtidas em farmácias da cidade Curitiba. Em todos os procedimentos desenvolvidos, a quantidade de composto a determinar encontrava-se indicada na embalagem do produto comercial e na bula informativa contida no seu interior. Sempre que necessário, e com o objetivo de uniformizar a expressão dos resultados analíticos dos fármacos comerciais

para uma mesma grandeza, calculou-se a quantidade de espécie determinada por massa de amostra. Para isso, avaliou-se a massa média, através da aferição de várias unidades de uma mesma embalagem comercial.

Sempre que possível, preparou-se uma solução estoque da amostra por dissolução de uma quantidade definida a um volume final exato, de forma que esta representasse a composição global média da amostra correspondente.

3.3.4 Preparação das demais soluções

A solução estoque do titulante AgNO_3 $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparada dissolvendo-se uma massa adequada deste sal em água destilada, sendo então padronizada por titulação potenciométrica com NaCl devidamente seco, utilizado como padrão primário, conforme procedimento proposto na literatura [1]. As soluções de AgNO_3 nas concentrações de $1,00 \times 10^{-2}$ e $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foram obtidas diluindo-se apropriadamente a solução estoque.

O eletrólito suporte para as medidas potenciométricas, solução de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ foi preparado dissolvendo-se uma massa adequada do sal em água deionizada. As concentrações de $1,00 \times 10^{-2}$ e $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ foram preparadas diluindo-se a solução estoque $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ da respectiva solução.

Para facilitar a dissolução das soluções foi utilizado banho de ultrassom, durante cerca de 15 minutos.

3.3.5 Determinação dos fármacos propranolol e diltiazem por titulação condutométrica com AgNO_3

Alíquotas de 10,00 mL (soluções padrão ou de amostras) foram colocadas em um béquer e uma célula condutométrica foi imersa na solução para análise. Essas soluções foram tituladas com uma solução de nitrato de

prata de mesma concentração (bureta de 25,00 mL), sob agitação constante, registrando-se o valor de condutância a cada adição do titulante a 25 °C. Após cada adição foi aguardado um tempo para estabilização de aproximadamente 2 min para cada leitura. Esse valor deve ser corrigido em função do volume de titulante adicionado de acordo com a EQUAÇÃO 3:

$$L_{\text{corrig.}} = L_{\text{Exp.}} \times \left(\frac{V_i + V_a}{V_i} \right) \quad (3)$$

em que:

$L_{\text{corrig.}}$ = condutância corrigida

$L_{\text{Exp.}}$ = condutância experimental

V_i = volume inicial

V_a = volume adicionado

A partir do gráfico de condutância vs. volume de solução de AgNO_3 adicionado, determinou-se o volume equivalente e, assim, a concentração dos fármacos nas soluções tituladas.

3.3.6 Determinação dos fármacos propranolol e diltiazem por potenciometria utilizando eletrodo de prata

Amostras e soluções padrão contendo propranolol ou diltiazem foram analisadas pelo método potenciométrico utilizando um eletrodo de prata metálica como indicador. Essas soluções foram tituladas com solução padronizada de AgNO_3 sob agitação constante, registrando-se o valor do potencial a cada adição do titulante.

O eletrodo de prata metálica funciona como um eletrodo de primeira espécie sendo sensível à atividade dos íons Ag^+ em solução. Em meio de cloreto, este eletrodo pode também ser representado como um eletrodo de segunda espécie do tipo Ag/AgCl tornando-se sensível à atividade de íons Cl^- em solução.

A FIGURA 8 ilustra o sistema utilizado para realização das medidas condutométricas e potenciométricas para os fármacos.

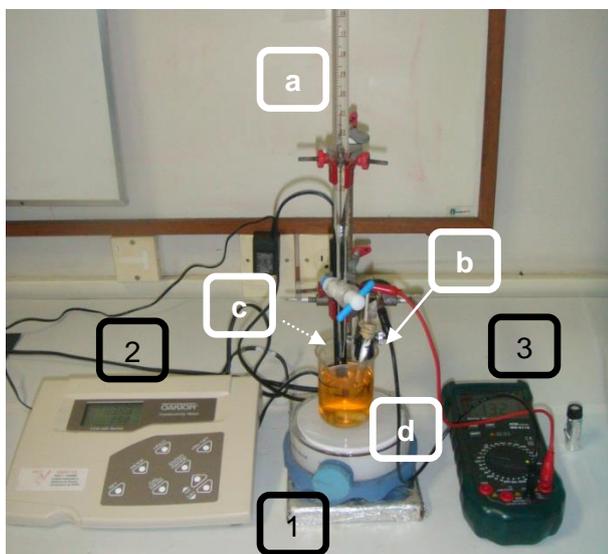


FIGURA 8 - Fotografia do sistema utilizado para as determinações condutométricas e potenciométricas dos fármacos cloridrato de propranolol e cloridrato de diltiazem: (1) agitador magnético; (2) condutivímetro; (3) multímetro; (a) bureta de 25,00 mL; (b) eletrodos de prata/cloreto de prata e fio de prata; (c) célula condutométrica e (d) béquer com solução do fármaco.

3.3.7 Determinação potenciométrica de pantoprazol sódico sesquiidratado utilizando um eletrodo modificado com filme de polipirrol dopado com pantoprazol

Nesse estudo pretendeu-se desenvolver um EIS a partir da eletropolimerização do monômero do pirrol (PPy) sobre um substrato de grafite do tipo escolar de espessura 2,0 mm em solução contendo o fármaco na concentração de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$. Antes da etapa de eletropolimerização, a solução de pirrol foi destilada a fim de se obter uma maior pureza do reagente, uma vez que com o tempo há a formação de oligômeros que prejudicam o desempenho do sensor proposto. A FIGURA 9 mostra o sistema empregado, e o reagente antes e após destilação.

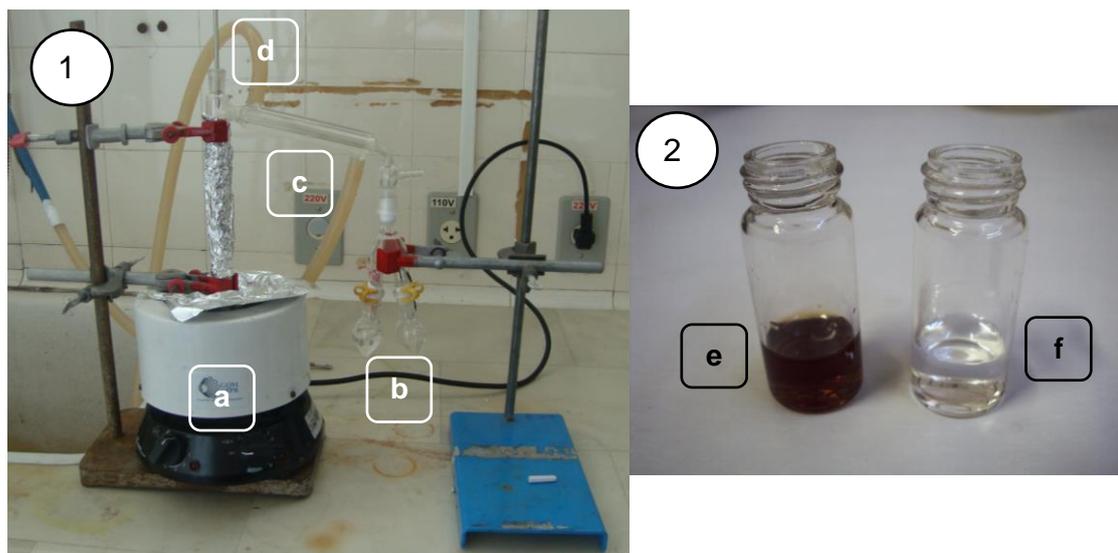


FIGURA 9 - Fotografias: (1) Sistema de destilação do pirrol: (a) manta de aquecimento; (b) balão de fundo redondo; (c) condensador; (d) termômetro. (2) polipirrol: (e) antes e (f) depois da destilação.

A eletropolimerização do filme de PPy em uma solução de pantoprazol $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ foi feita pelo método galvanostático a uma densidade de corrente de $0,60 \text{ mA cm}^{-2}$ e carga de 250 mC , promovendo a adsorção de íons dopantes do fármaco na estrutura do filme de PPy. Na FIGURA 10 nota-se que o eletrodo polimerizado possui um filme mais escuro na área delimitada do grafite.

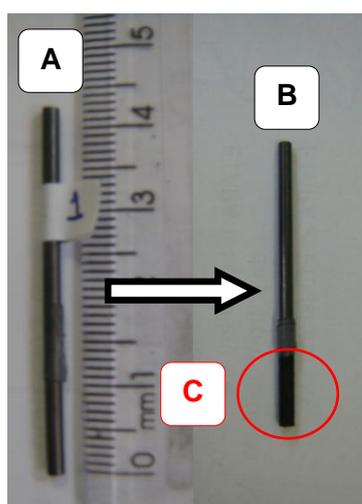


FIGURA 10 - (a) eletrodo de grafite escolar com demarcação da área de $1,00 \text{ cm}$ a ser eletropolimerizada; (b) eletrodo após eletropolimerização e (c) área específica do eletrodo modificada com polipirrol e solução de pantoprazol $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$.

Após a construção do eletrodo indicador, amostras e solução padrão contendo pantoprazol sódico sesquiidratado foram analisadas utilizando a potenciometria direta. Alíquotas de 10,00 mL de solução padrão e amostra comercial contendo o fármaco foram tituladas na célula eletroquímica registrando-se o valor do potencial elétrico a cada adição.

3.3.8 Métodos das Farmacopeias para determinação dos fármacos

a) Cloridrato de propranolol

O método sugerido pela Farmacopeia Brasileira utiliza 10,00 mL de acetato de mercúrio para proceder a titulação. A fim de evitar-se a utilização desse reagente tóxico, preferiu-se adotar o procedimento da Farmacopeia Britânica para a determinação do propranolol.

Farmacopeia Britânica: dissolver 0,250 g da amostra em 25 mL de etanol. Titular com hidróxido de sódio 0,1 M. Determinar o ponto de equivalência por potenciometria. Cada mL de hidróxido de sódio 0,1 M corresponde a 29,58 mg de $C_{16}H_{22}ClNO_2$.

b) Cloridrato de diltiazem

Na Farmacopeia Brasileira não há descrição de metodologia para determinação do diltiazem. Utilizamos a metodologia adotada pela Farmacopeia Britânica.

Farmacopeia Britânica: dissolver 0,400 g da amostra em uma mistura de 2 mL de ácido fórmico anidro e 60 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 M. Determinar o ponto de equivalência por potenciometria. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M corresponde a 45,1 mg de $C_{22}H_{27}ClN_2O_4S$.

c) Pantoprazol sódico sesquiidratado

Farmacopeia Brasileira: dissolver 0,35 g da amostra em 50 mL de etanol. Titular com ácido clorídrico 0,1 M. Determinar o ponto final por potenciometria ou utilizar azul de bromofenol como indicador. Realizar ensaio

em branco e efetuar as correções necessárias. Cada mL de ácido clorídrico 0,1 M corresponde a 40,535 mg de $C_{16}H_{14}F_2N_3NaO_4S$.

3.3.9 Tratamento dos resíduos gerados

As soluções utilizadas para a validação do procedimento proposto por titulações condutométricas e potenciométricas que continham nitrato de prata como titulante foram, após o uso, acondicionados em lugar apropriado e, posteriormente serão utilizadas para recuperação da prata.

Os fármacos utilizados e os resíduos de polipirrol foram acondicionados em lugar apropriado e, posteriormente, serão enviados para estocagem nos depósitos de resíduos da Universidade Federal do Paraná (UFPR) e futuramente serão tratados antes de serem descartados.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 DETERMINAÇÃO CONDUTOMÉTRICA E POTENCIOMÉTRICA DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL UTILIZANDO NITRATO DE PRATA COMO TITULANTE

Por ser comercializado na forma de cloridrato, a fim de melhorar sua solubilidade em água, o propranolol pode ser determinado indiretamente a partir das reações características para identificação de cloreto em solução. O método mais clássico para a determinação de cloretos é o método de Mohr, baseado na titulação dos íons Cl^- com uma solução padronizada de Ag^+ , formando um precipitado de $\text{AgCl}_{(s)}$. Em sistemas clássicos o ponto de viragem é observado utilizando-se como indicador o cromato de potássio, que indica o excesso de Ag^+ em solução a partir da formação de um precipitado avermelhado de $\text{Ag}_2\text{CrO}_{4(s)}$. A fim de melhorar a precisão e exatidão destes procedimentos, podemos substituir o indicador visual pelo acompanhamento de uma propriedade de tal sistema a partir de uma técnica instrumental.

A titulação potenciométrica utilizando um eletrodo de prata metálica assim como a titulação condutométrica são alternativas simples, porém interessantes que podem ser usadas em substituição ao indicador visual sem, contudo, aumentar significativamente os custos da análise.

Assim, nesta etapa do trabalho é proposta a determinação de cloridrato de propranolol a partir da reação com AgNO_3 sendo acompanhada por medidas condutométricas e potenciométricas.

4.1.1 Estudos preliminares

Inicialmente, avaliou-se o intervalo de tempo entre as adições do titulante tanto para as medidas condutométricas como para as potenciométricas, a fim de se obter uma maior precisão nos resultados. Com o

tempo estabelecido em 20 s, foram conduzidas 3 titulações sucessivas de solução padrão de cloridrato de propranolol em concentrações variando de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando o titulante nitrato de prata sempre na mesma concentração do titulado. Este estudo foi realizado para otimizar qual das concentrações seria utilizada para as etapas posteriores, com base no melhor coeficiente de correlação (r^2).

Com o mesmo padrão de cloridrato de propranolol, foram conduzidas titulações seguindo o procedimento descrito pela FB, e constatou-se que utilizando esse método a pureza encontrada foi de aproximadamente 92%, fora do valor estipulado pelo laudo de pureza fornecido pela farmácia que indicava um teor de cloridrato de propranolol entre 99,0 e 101,0% em massa. Se considerarmos o valor de pureza como $\pm 92\%$ do sal, a porcentagem de erro no método decai em $\pm 8\%$, diminuindo o desvio padrão relativo (DPR).

A TABELA 3 apresenta os resultados obtidos para cada concentração de solução padrão (de referência) de cloridrato de propranolol, podendo ser observada uma boa concordância entre os teores determinados condutometricamente e potenciometricamente.

TABELA 3 - Comparação entre os teores conhecidos de cloridrato de propranolol na solução de referência e aqueles determinados empregando-se os métodos condutométrico e o potenciométrico e seus respectivos desvios padrão relativo (DPR).

Solução de Referência (mol L⁻¹)	Condutométrico (mol L⁻¹)*	Potenciométrico (mol L⁻¹)*	DPR₁ (%)	DPR₂ (%)	DPR₃ (%)
$0,9 \times 10^{-3}$	-	$8,4 \times 10^{-3} \pm 0,4$	-	- 6	-
$0,9 \times 10^{-2}$	$8,6 \times 10^{-2} \pm 0,2$	$8,6 \times 10^{-2} \pm 0,2$	- 4	- 4	0
$0,9 \times 10^{-1}$	$8,8 \times 10^{-1} \pm 0,1$	$8,8 \times 10^{-1} \pm 0,1$	- 2	- 2	0

*n=3; média \pm desvio padrão - DPR₁ - condutométrico vs. solução de referência; DPR₂ - potenciométrico vs. solução de referência; DPR₃ - condutométrico vs. potenciométrico.

Para concentrações de cloridrato de propranolol menores de $0,9 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, a adição do titulante ocasionou pequenas variações de condutância

que não permitiram a determinação de um ponto de inflexão nítido. Como consequência, a determinação do ponto estequiométrico pode ser determinada até um teor mínimo de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$, porém com uma exatidão menor devido à diluição das soluções e à solubilidade do $\text{AgCl}_{(s)}$ formado.

Observa-se pelos dados da TABELA 3 que os resultados obtidos experimentalmente são discrepantes quando não corrigidos, comparados aos valores das soluções de referência. O provável motivo para isso seria a presença de impurezas no sal de cloridrato de propranolol adquirido em uma farmácia de manipulação da cidade de Curitiba.

4.1.2 Curvas condutométricas e potenciométricas obtidas

A FIGURA 11 apresenta os perfis de curvas condutométricas obtidas para a determinação de cloridrato de propranolol padrão empregando um volume de 10,00 mL nas concentrações de $0,9 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, $0,9 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e $0,9 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução padronizada de Ag^+ como titulante.

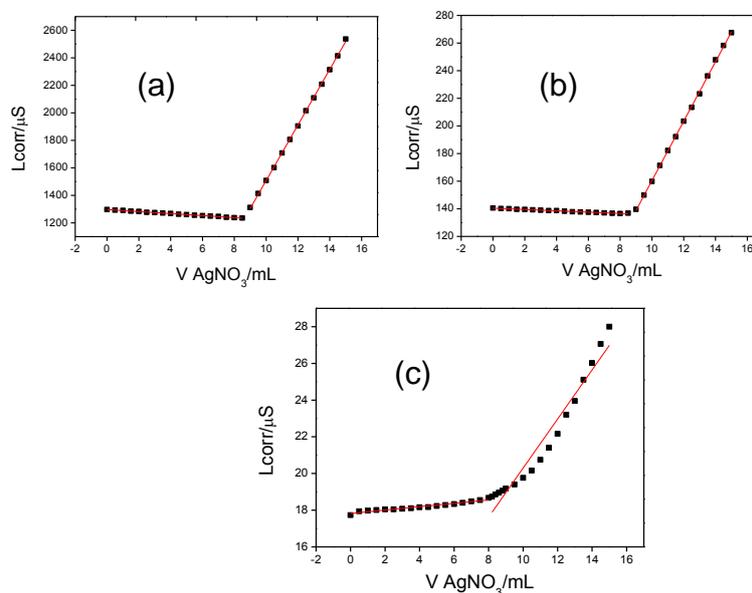


FIGURA 11 - Curvas das titulações condutométricas de cloridrato de propranolol (a) na concentração de $0,9 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) na concentração de $0,9 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) na concentração de $0,9 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

A FIGURA 12 apresenta uma curva condutométrica obtida para a determinação de cloridrato de propranolol padrão empregando um volume de 10,00 mL na concentração de $0,9 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução padronizada de Ag^+ $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como titulante. Vale ressaltar que a concentração tanto do titulante como do titulado adotada para a sequência do trabalho foi da ordem de $0,9 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ sendo nessa sessão adotada a concentração de $0,9 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ apenas por apresentar uma melhor definição das curvas tanto condutométrica como potenciométrica.

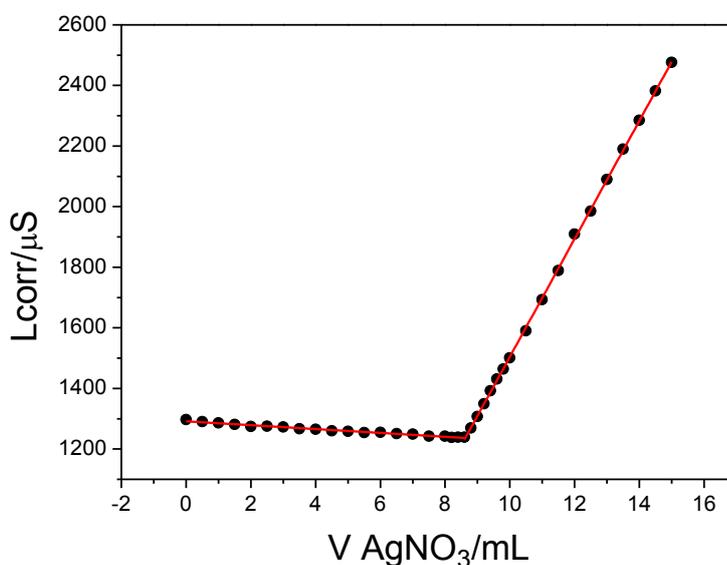


FIGURA 12 - Curva da titulação condutométrica de 10, 00 mL de cloridrato de propranolol $0,9 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como reagente titulante a $23 \text{ }^\circ\text{C}$.

A condutância medida antes da adição do titulante (volume de AgNO_3 igual a zero) deve-se à molécula de propranolol presente na cela condutométrica. Até o ponto estequiométrico, a titulação envolve a precipitação dos íons Cl^- com Ag^+ , formando o precipitado de $\text{AgCl}_{(s)}$, que possui baixa solubilidade ($1,10 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$). A mobilidade iônica dos ânions Cl^- e NO_3^- são muito próximas ($\text{Cl}^- = 76,3 \text{ cm s}^{-1}$ e $\text{NO}_3^- = 71,46 \text{ cm s}^{-1}$), resultando numa menor inclinação no primeiro ramo da curva de titulação (FIGURA 12). Esperava-se um pequeno aumento no primeiro ramo da curva devido à liberação de íons H_3O^+ à medida que os íons cloreto vão sendo titulados. Entretanto, os íons H^+ (H_3O^+) podem estar protonando o grupo amino da molécula de propranolol e, conseqüentemente, diminuindo a inclinação do primeiro ramo da curva de titulação uma vez que os íons nitrato seriam os

principais responsáveis pela condutância da solução. Na FIGURA 13, a reação que acontece nas titulações com o propranolol.

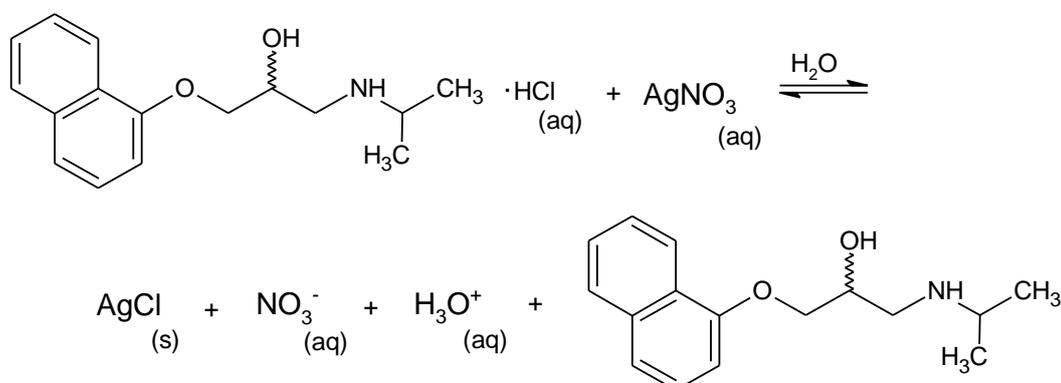


FIGURA 13 - Reação do cloridrato de propranolol com nitrato de prata.

Após o ponto estequiométrico, à medida que são adicionados volumes crescentes da solução do titulante, há um aumento pronunciado da condutância em função do excesso de volume da solução de $\text{AgNO}_3(\text{aq})$ adicionado. O aumento das concentrações desse cátion metálico e dos ânions $\text{NO}_3^-(\text{aq})$ na solução resultante promovem o aumento da inclinação do segundo ramo da curva de titulação. O ponto final da titulação pode então ser determinado pelo ponto de intersecção dos dois segmentos da reta. Não são necessários muitos pontos durante a titulação e sim mais pontos próximo ao ponto de equivalência para encontrá-lo com maior exatidão.

A FIGURA 14 apresenta os perfis de curvas potenciométricas obtidas para a determinação de cloridrato de propranolol para as diferentes teores avaliados.

A titulação potenciométrica utiliza a medida do potencial de um eletrodo indicador em relação a um eletrodo de referência para acompanhar a variação da concentração (atividade) do analito durante um processo de titulação, com o objetivo de detectar o ponto de equivalência (P.E.). A variação do potencial normalmente é prevista pela equação de Nernst EQUAÇÃO (2). Esta equação fornece uma relação simples entre o potencial relativo de um eletrodo e a atividade das espécies iônicas correspondentes em solução.

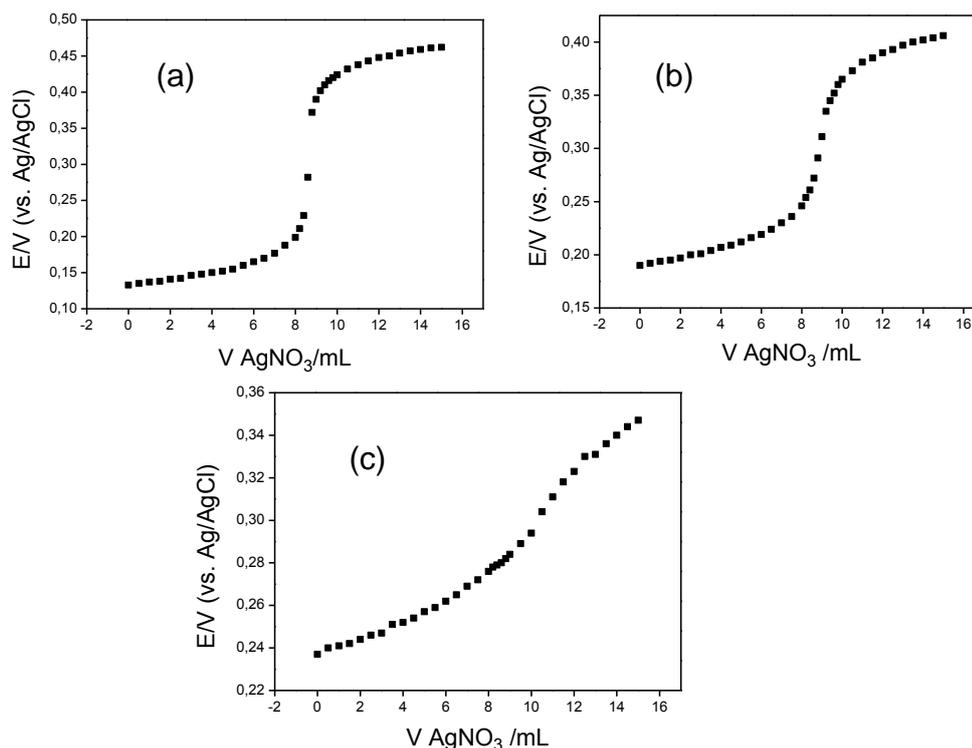


FIGURA 14 - Curvas das titulações potenciométricas de cloridrato de propranolol (a) na concentração de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de $AgNO_3$ $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) na concentração de $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de $AgNO_3$ $0,97 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) na concentração de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de $AgNO_3$ $0,97 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Para a titulação potenciométrica, construiu-se um gráfico do potencial em função do volume de nitrato de prata adicionado conforme mostrado na FIGURA 15. A titulação potenciométrica consiste em acompanhar os vários estágios e determinar o ponto final de um processo de titulação por intermédio da medida do potencial. Neste método, o ponto estequiométrico será revelado por uma abrupta modificação do potencial, o chamado “salto potenciométrico”.

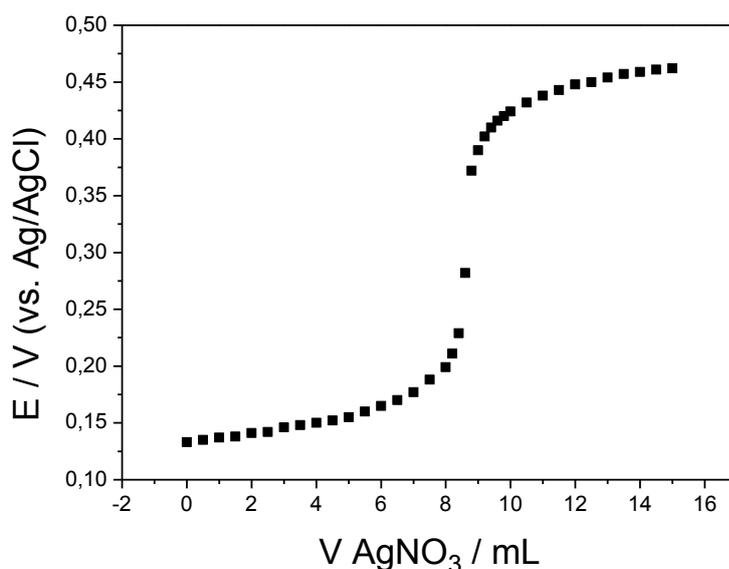


FIGURA 15 - Curva da titulação potenciométrica de 10,00 mL de cloridrato de propranolol $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como titulante.

A detecção do ponto final da titulação pode ser feita com maior facilidade pelo exame da curva de titulação que em geral é uma curva sigmoide conforme apresentado na FIGURA 15. O segmento central da curva é onde se localiza o ponto final; na realidade o ponto final está no ponto de inflexão da curva. Pode-se obter um valor aproximado do ponto final localizando-se o meio caminho do segmento ascendente da curva, quando a mesma, tiver muito evidente este segmento. Em geral, é necessário adotar um tratamento matemático para fixar, com exatidão, o ponto final. Para isto, foi adotado o método da primeira e segunda derivadas da curva original, utilizando a segunda derivada para quantificação, mostra a FIGURA 16.

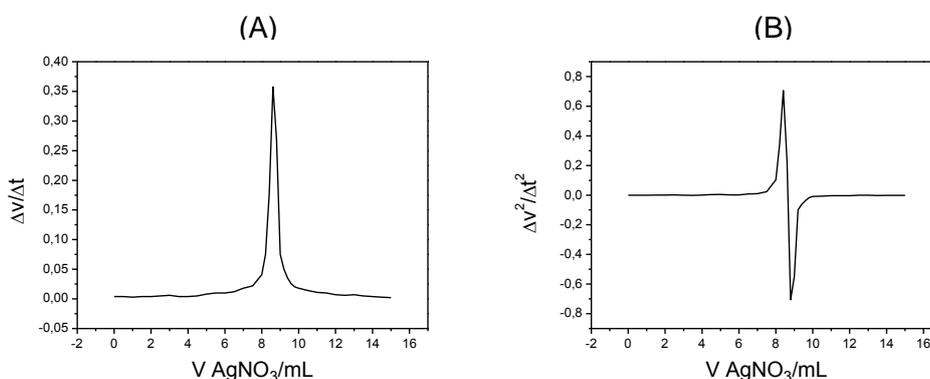


FIGURA 16 - Método (A) da primeira derivada e (B) da segunda derivada da curva original do cloridrato de propranolol para a quantificação do fármaco.

Quando comparados os dados obtidos para as medidas condutométricas e potenciométricas observa-se uma concordância que atesta a potencialidade dos procedimentos propostos para a determinação de cloridrato de propranolol, como mostrado na FIGURA 17.

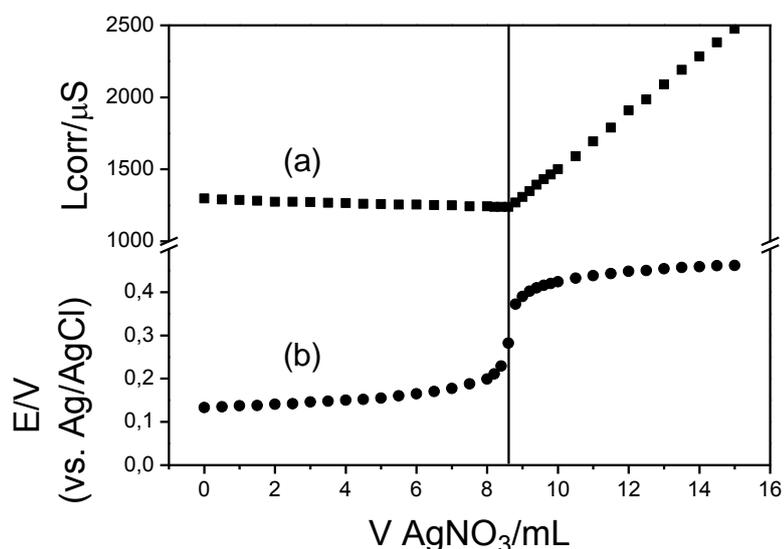


FIGURA 17 - Titulação condutométrica (a) e potenciométrica (b) e do fármaco cloridrato de propranolol $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e AgNO_3 $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$.

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que os melhores resultados são obtidos partindo-se de uma concentração da ordem de $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ tanto para o titulante quanto para o titulado considerando ambos os métodos (condutométrico e potenciométrico). Entretanto, buscando minimizar os gastos com reagentes, optou-se por utilizar concentrações do titulante e titulado da ordem de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ sem, contudo, prejudicar a determinação conforme TABELA 3.

4.1.3 Efeito de interferentes em potencial na determinação de propranolol

O efeito de interferentes em potencial na determinação de propranolol em formulações farmacêuticas foi avaliado para excipientes normalmente presentes em amostras comerciais (celulose microcristalina, amido, D-glucose e estearato de magnésio) [54]. Nesses experimentos foram feitas comparações das concentrações de cloridrato de propranolol obtidas empregando-se uma solução de referência $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ com uma segunda solução de mesma

concentração do fármaco onde foram adicionadas quantidades dos excipientes em uma razão molar fármaco:excipiente de 10:1, 1:1 e 1:10. Os resultados obtidos (TABELA 4) mostraram que a glicose influencia nas medidas, mas a quantidade encontrada nas amostras é sempre menor que para o analito. Nas demais (celulose microcristalina e estearato de magnésio) não houve interferência significativa nos valores de volume de equivalência encontrados para esses interferentes estudados uma vez que a maioria destes excipientes é insolúvel e/ou possui baixa solubilidade em água.

TABELA 4 - Efeitos de interferentes potenciais para determinação de cloridrato de propranolol utilizando o método proposto.

Solução padrão (mmol L⁻¹)	Interferentes (mmol L⁻¹)	Método Proposto*	DPR (%)
Amido			
	1,00	10,06 ± 0,03	8,6
9,2	10,00	10,12 ± 0,04	9,2
	100,00	10,52 ± 0,04	13,2
D-Glucose			
9,2	1,00	9,62 ± 0,04	4,2
	10,00	8,45 ± 0,05	-7,5
	100,00	7,02 ± 0,05	-21,8

* n = 3; DPR = Método proposto vs. solução padrão

4.1.4 Análise de amostras reais

Os métodos condutométricos e potenciométricos propostos foram aplicados na determinação de cloridrato de propranolol em uma formulação farmacêutica comercial e os resultados foram comparados com aqueles obtidos empregando-se o método comparativo de titulação potenciométrica recomendado pela Farmacopeia Britânica [21]. A TABELA 5 apresenta os resultados obtidos para essas determinações.

TABELA 5 - Teores de cloridrato de propranolol obtidos empregando-se o método de referência [21] em comparação aos métodos propostos.

Cloridrato de Propranolol (mg/comprimido)					Desvio padrão relativo (%)	
Amostra	Rotulado	Referência	Condut.*	Potenc.*	DPR ₁	DPR ₂
Genérico	80	73 ± 9	86 ± 3	86 ± 3	+ 18	+ 18

*n =3; DPR₁ = condutométrico vs. referência; DPR₂ = potenciométrico vs. referência.

Apesar dos valores de erro relativo serem considerados significativos, podemos afirmar que os procedimentos propostos, tanto condutométrico quanto potenciométrico, podem ser adotados para a análise de cloridrato de propranolol em formulações farmacêuticas uma vez que a Farmacopeia Brasileira admite um erro da ordem de 10% para procedimentos deste tipo em virtude dos erros associados ao procedimento de referência que neste caso trata-se de uma titulação ácido-base utilizando eletrodo combinado de vidro para medidas de pH. Também por conta dos prováveis erros associados ao método de referência da FB, podemos adotar com maior confiabilidade o valor rotulado pelos fabricantes que é de 80 mg/comprimido. Nesse caso, o erro relativo dos procedimentos propostos com relação ao valor rotulado seriam de +7,9% para o procedimento condutométrico e +7,5% para a titulação potenciométrica.

4.2 DETERMINAÇÃO CONDUTOMÉTRICA E POTENCIOMÉTRICA DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM UTILIZANDO NITRATO DE PRATA COMO TITULANTE

Assim como para o cloridrato de propranolol, a titulação potenciométrica utilizando um eletrodo de prata metálica e a titulação condutométrica com AgNO_3 são alternativas simples, porém interessantes que podem ser usadas em substituição ao indicador visual sem, contudo, aumentar significativamente os custos da análise para esse fármaco.

Dessa forma, os mesmos procedimentos utilizados para a determinação de cloridrato de propranolol foram adotados para a quantificação de cloridrato de diltiazem em amostras de formulações farmacêuticas.

Sendo assim, as mesmas discussões feitas para o cloridrato de propranolol são válidas para o cloridrato de diltiazem.

A TABELA 6 apresenta os resultados obtidos para cada concentração de solução padrão (de referência) de cloridrato de diltiazem, podendo ser observada uma boa concordância entre os teores determinados condutometricamente e potenciometricamente.

TABELA 6 - Comparação entre os teores conhecidos de cloridrato de diltiazem na solução de referência e aqueles determinados empregando-se os métodos condutométrico e o potenciométrico.

Solução de Referência (mol L⁻¹)	Condutométrico (mol L⁻¹)*	Potenciométrico (mol L⁻¹)*	DPR₁ (%)	DPR₂ (%)	DPR₃ (%)
1,00 x 10 ⁻³	0,78 x 10 ⁻³ ± 0,07	0,78 x 10 ⁻³ ± 0,07	- 22	- 22	0
1,00 x 10 ⁻²	1,00 x 10 ⁻² ± 0,03	1,00 x 10 ⁻² ± 0,03	0	0	0
1,00 x 10 ⁻¹	1,00 x 10 ⁻¹ ± 0,01	1,00 x 10 ⁻¹ ± 0,01	0	0	0

*n=3; média ± desvio padrão - DPR₁ - condutométrico vs. solução de referência; DPR₂ - potenciométrico vs. solução de referência; DPR₃ - condutométrico vs. potenciométrico.

Observa-se uma boa concordância entre os resultados obtidos pelos procedimentos propostos quando comparado aos teores da solução de referência, com exceção daquele obtido a partir de solução mais diluída de cloridrato de diltiazem. Assim como para o cloridrato de propranolol, este fármaco foi adquirido na mesma farmácia de manipulação da cidade de Curitiba também acompanhado de um laudo de pureza sendo adotado o valor de 100% para o preparo das soluções de referência.

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que os melhores resultados são obtidos partindo-se de uma concentração da ordem de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ tanto para o titulante quanto para o titulado considerando ambos os métodos (condutométrico e potenciométrico). Entretanto, buscando minimizar os gastos com reagentes, optou-se por utilizar concentrações do titulante e titulado da ordem de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ sem, contudo, prejudicar a determinação. Na FIGURA 19 tem-se os perfis das titulações com diferentes concentrações.

Com o mesmo padrão de cloridrato de diltiazem utilizado foram conduzidas titulações conforme a FB, e constatou-se que utilizando esse método a pureza encontrada foi de aproximadamente 99,5 %, dentro do valor estipulado pelo laudo de pureza fornecido pela farmácia que indicava um teor de cloridrato de diltiazem entre 99,0 e 101,0% em massa.

Quando comparados os dados obtidos para as medidas condutométricas e potenciométricas observa-se uma concordância que atesta a potencialidade dos procedimentos propostos para a determinação de cloridrato de diltiazem.

4.2.1 Curvas condutométricas e potenciométricas obtidas

A FIGURA 18 apresenta os perfis de curvas condutométricas obtidas para a determinação de cloridrato de diltiazem padrão empregando um volume de 10,00 mL nas concentrações de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução padronizada de Ag^+ como titulante.

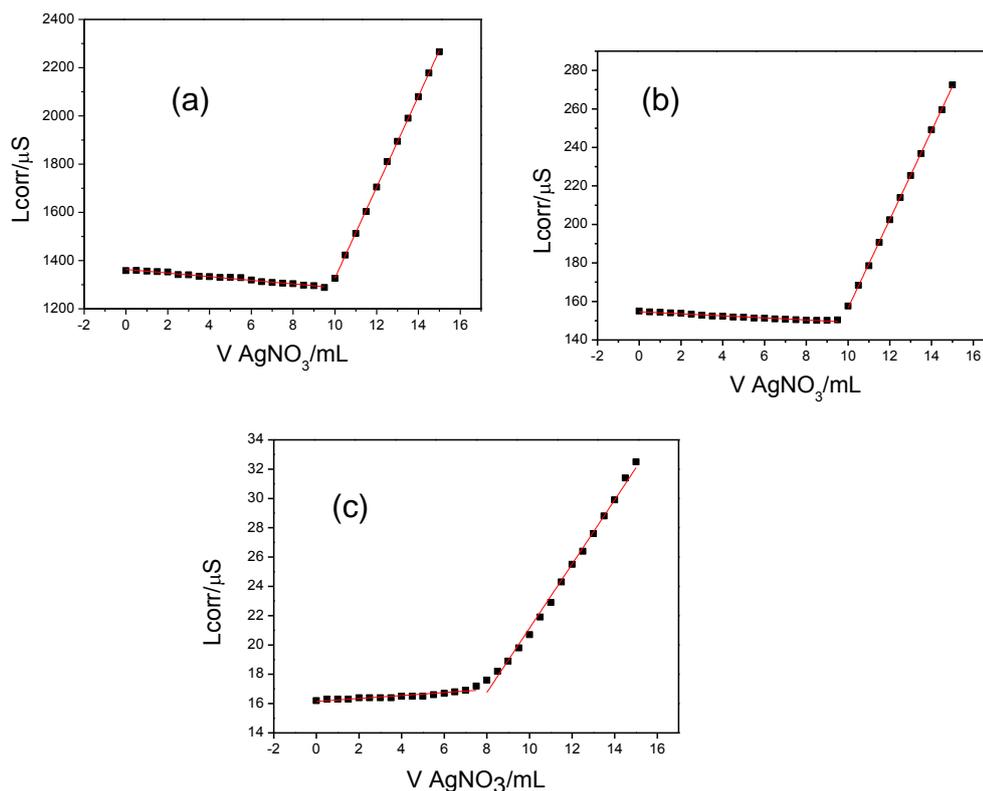


FIGURA 18 - Curvas das titulações condutométricas de cloridrato de diltiazem (a) na concentração de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) na concentração de $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) na concentração de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

A FIGURA 19 apresenta uma curva condutométrica característica obtida para a determinação de cloridrato de diltiazem padrão de 10,00 mL na concentração de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução padronizada de Ag^+ $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como titulante. Vale ressaltar que a concentração tanto do titulante como do titulado adotada para a sequência do trabalho foi da ordem de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ sendo nessa sessão adotada a concentração de $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ apenas por apresentar uma melhor definição das curvas tanto condutométrica como potenciométrica. O ponto estequiométrico da titulação foi determinado pelo ponto de intersecção dos dois segmentos da reta.

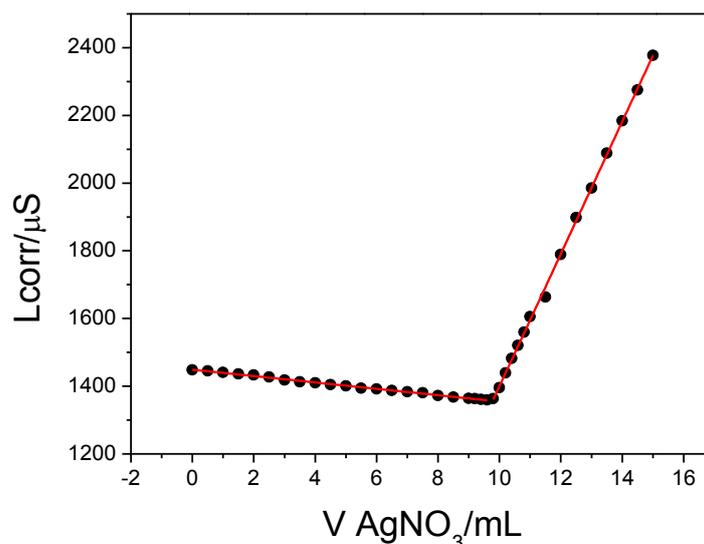


FIGURA 19 - Curva da titulação condutométrica de cloridrato de diltiazem $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como reagente titulante.

A condutância medida antes da adição da espécie titulante (volume de AgNO_3 igual a zero) deve-se à molécula de diltiazem presente na cela condutométrica. Até o ponto de equivalência, a titulação envolve a precipitação dos íons Cl^- com Ag^+ , formando o precipitado de $\text{AgCl}_{(s)}$, que possui baixa solubilidade ($1,10 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$) sendo então substituídos pelos íons NO_3^- provenientes do titulante. A mobilidade iônica dos ânions Cl^- e NO_3^- são muito próximas ($\text{Cl}^- = 76,3 \text{ cm s}^{-1}$ e $\text{NO}_3^- = 71,46 \text{ cm s}^{-1}$) [8], resultando numa menor inclinação no primeiro ramo da curva de titulação (FIGURA 18). De acordo com a FIGURA 20, esperava-se um pequeno aumento no primeiro ramo da curva devido à liberação de íons H_3O^+ à medida que os íons cloreto vão sendo titulados. Entretanto, os íons H^+ (H_3O^+) podem estar protonando o grupo amino da molécula de diltiazem e, conseqüentemente, diminuindo a inclinação do primeiro ramo da curva de titulação uma vez que os íons nitratos seriam os principais responsáveis pela condutância da solução.

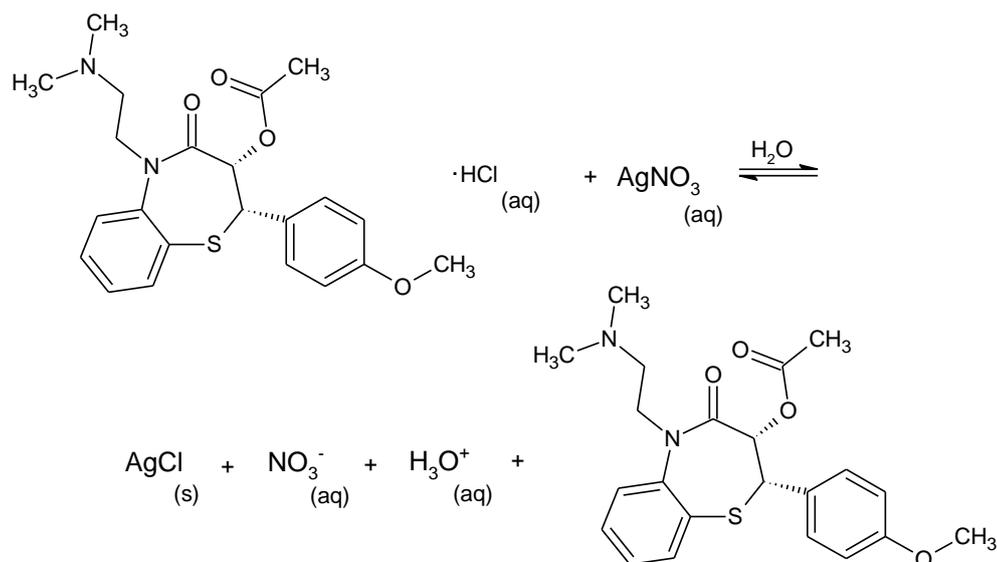


FIGURA 20 - Reação de cloridrato de diltiazem com nitrato de prata.

Após o ponto de estequiométrico, à medida que são adicionados volumes crescentes da solução do titulante, há um aumento pronunciado da condutância em função do excesso de volume da solução de AgNO_{3(aq)} adicionado. O aumento das concentrações desse cátion metálico e dos ânions NO_{3⁻(aq)} na solução resultante promovem o aumento da inclinação do segundo ramo da curva de titulação. O ponto final da titulação pode então ser determinado pelo ponto de intersecção dos dois segmentos da reta.

A FIGURA 21 apresenta os perfis de curvas potenciométricas obtidas para a determinação de cloridrato de diltiazem.

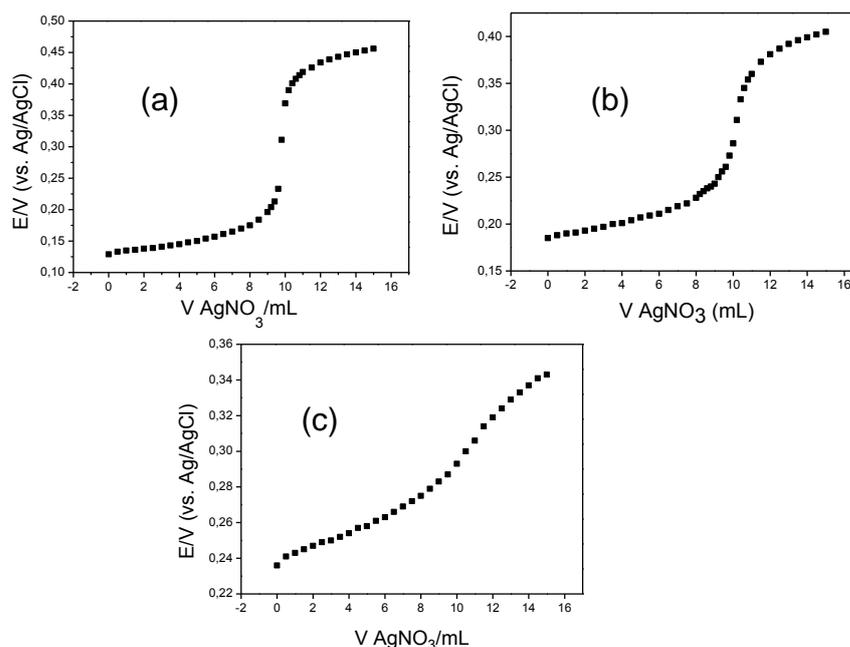


FIGURA 21 - Curvas das titulações potenciométricas de cloridrato de diltiazem (a) na concentração de $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$, (b) na concentração de $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e (c) na concentração de $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$.

Para a titulação potenciométrica, construiu-se um gráfico do potencial em função do volume de nitrato de prata adicionado conforme mostrado na FIGURA 22, onde apresenta uma curva potenciométrica característica obtida para a determinação de 10,00 mL de cloridrato de diltiazem padrão $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de Ag^+ $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como titulante.

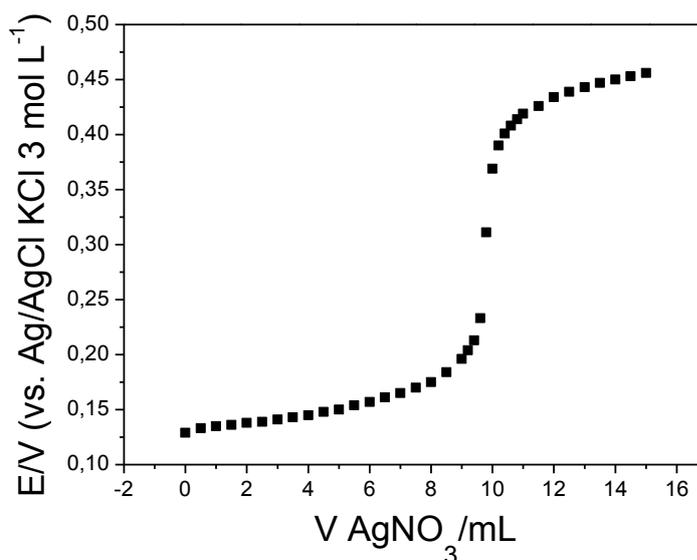


FIGURA 22 - Curva da titulação potenciométrica de cloridrato de diltiazem $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ utilizando solução de AgNO_3 $0,97 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ como reagente titulante.

A detecção do ponto final da titulação pode ser feita com maior facilidade pelo exame da curva de titulação que em geral é uma curva sigmoide conforme apresentado na FIGURA 18. O segmento central da curva é onde se localiza o ponto final; na realidade o ponto final está no ponto de inflexão da curva. Pode-se obter um valor aproximado do ponto final localizando-se o meio caminho do segmento ascendente da curva, quando a mesma, tiver muito evidente este segmento. Em geral, é necessário adotar um tratamento matemático para fixar, com exatidão, o ponto final. Para isto, foi adotado o método da primeira e segunda derivadas da curva original, utilizando a segunda derivada para quantificação.

Quando comparados os dados obtidos para as medidas condutométricas e potenciométricas observa-se uma concordância que atesta a potencialidade dos procedimentos propostos para a determinação de cloridrato de diltiazem, como mostrado na FIGURA 23.

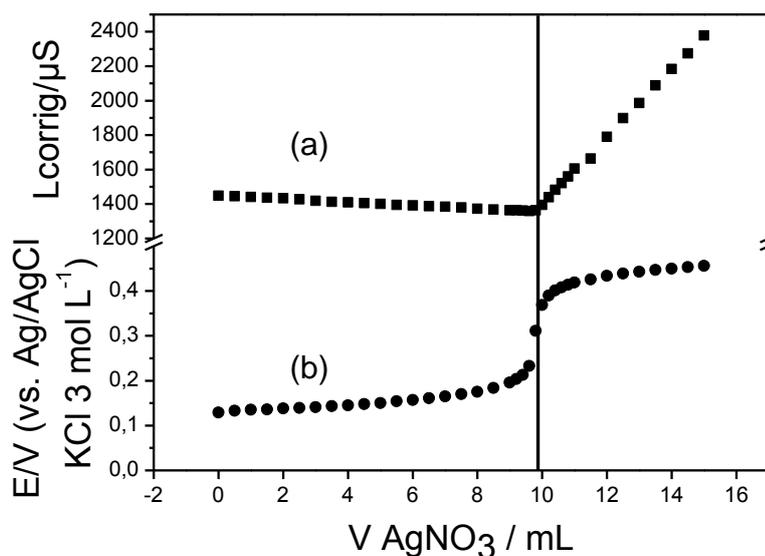


FIGURA 23 - Titulação condutométrica (a) e potenciométrica (b) do fármaco cloridrato de diltiazem $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ e AgNO_3 $1,00 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$.

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que os melhores resultados são obtidos partindo-se de uma concentração da ordem de $1,0 \times 10^{-1} \text{ mol L}^{-1}$ tanto para o titulante quanto para o titulado considerando ambos os métodos (condutométrico e potenciométrico). Entretanto, buscando minimizar os gastos com reagentes, optou-se por utilizar concentrações do titulante e titulado da ordem de $1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ sem, contudo, prejudicar a determinação.

4.2.2 Efeito de interferentes em potencial para a determinação de cloridrato de diltiazem

O efeito de interferentes em potencial na determinação de diltiazem em formulações farmacêuticas foi avaliado para excipientes normalmente presentes em amostras comerciais (lactose monoidratada, amido, óleo de rícino, D-glucose, estearato de magnésio) [33]. Nesses experimentos foram feitas comparações das concentrações de cloridrato de propranolol obtidas empregando-se uma solução de referência $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ com uma segunda solução de mesma concentração do fármaco onde foram adicionadas quantidades dos excipientes em uma razão molar fármaco: excipiente de 10:1, 1:1 e 1:10. Os resultados obtidos (TABELA 7) mostraram que a glicose

influencia nas medidas, mas a quantidade encontrada nas amostras é sempre menor que o analito. Nas demais não houve interferência significativa nos valores de volume de equivalência encontrados para esses interferentes estudados uma vez que a maioria destes excipientes é insolúvel e/ou possui baixa solubilidade em água.

TABELA 7 - Efeitos de interferentes potenciais para determinação de cloridrato de diltiazem utilizando o método proposto.

Solução padrão (mmol L⁻¹)	Interferentes (mmol L⁻¹)	Método Proposto*	DPR (%)
Amido			
	1,00	10,03 ± 0.04	0,3
10,00	10,00	10,11 ± 0.05	1,1
	100,00	10,14 ± 0.05	1,4
D-Glucose			
	1,00	10,09 ± 0,04	0,9
10,00	10,00	10,25 ± 0,02	2,5
	100,00	10,73 ± 0,02	7,3

* n = 3; DPR = Método proposto vs. solução padrão

4.2.3 Análise de amostras reais de diltiazem

Os métodos condutométricos e potenciométricos propostos foram aplicados na determinação de cloridrato de diltiazem em uma formulação farmacêutica comercial e os resultados foram comparados com aqueles obtidos empregando-se o método oficial recomendado pela Farmacopeia Britânica [21]. A TABELA 8 apresenta os resultados obtidos para essas determinações.

TABELA 8 - Teores de cloridrato de diltiazem obtidos empregando-se o método oficial, conforme referência [21] em comparação aos métodos propostos.

Cloridrato de Diltiazem (mg / comprimido)					DPR (%)	
Amostra	Rotulado	Referência	Condut.*	Potenc.*	DPR ₁	DPR ₂
Genérico	60	58 ± 0,3	59,9 ± 0,4	59,9 ± 0,4	+ 2,7	+ 2,7

*n =3; DPR₁ = condutométrico vs. referência; DPR₂ = potenciométrico vs. referência.

Observa-se uma boa concordância entre os resultados obtidos empregando-se os procedimentos propostos tanto em comparação com o valor rotulado quanto em comparação ao método oficial evidenciando a potencialidade das titulações potenciométrica e condutométrica para a determinação de cloridrato de diltiazem em formulações farmacêuticas.

4.3 DESENVOLVIMENTO DE UM ELETRODO ÍON SELETIVO (EIS) PARA A DETERMINAÇÃO DE PANTOPRAZOL A PARTIR DE FILME DE POLIPIRROL

Além das titulações condutométricas e potenciométricas, uma alternativa bastante interessante para o desenvolvimento de metodologias analíticas de baixo custo é a construção de eletrodos íon-seletivos para espécies de interesse farmacêutico.

Os EISs são construídos a partir de uma membrana com características particulares que é incorporada sobre um substrato condutor, conferindo ao conjunto propriedades que permitem a determinação de espécies de interesse com boa sensibilidade e seletividade [70]. O uso de polímeros condutores tem se mostrado uma alternativa promissora no desenvolvimento deste tipo de dispositivo, destacando-se o polipirrol (PPy) pois pode ser empregado sob diversos solventes, inclusive água, o que torna esse procedimento relativamente mais simples.

Esses filmes de PPy podem ser obtidos na forma oxidada, através de síntese eletroquímica, com a incorporação de contra-íons (ânions) para manter a eletro-neutralidade do sistema [73]. A capacidade de incorporação de diferentes ânions na estrutura polimérica durante o processo de polimerização possibilita o uso deste material para a construção de uma grande gama de eletrodos íon-seletivo para diversos ânions de interesse (FIGURA 24) sendo definida essa seletividade através do meio utilizado para a polimerização.

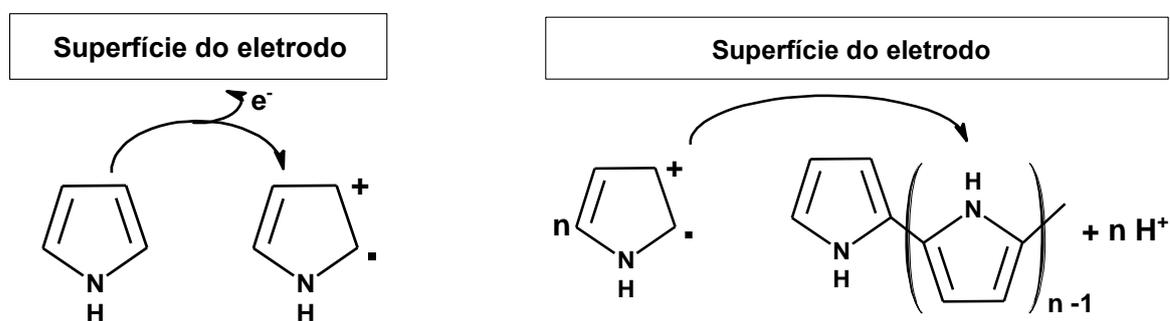


FIGURA 24 - Esquema da polimerização do monômero de PPy para formação do filme de polipirrol sobre a superfície do eletrodo de grafite.

Dentre as espécies que podem ser utilizadas para realizar essa dopagem dos filmes de PPy oxidados, elegemos o sal de pantoprazol sódico

por se tratar de um dos medicamentos antiulcerosos mais vendido pela indústria farmacêutica brasileira [73]. Frente a isso, torna-se importante o controle da dosagem dos medicamentos que estão disponíveis para o consumo da população. Uma proposta de funcionamento do eletrodo é que acontece um equilíbrio na interface do eletrodo com a solução do fármaco com o PPy (FIGURA 25).

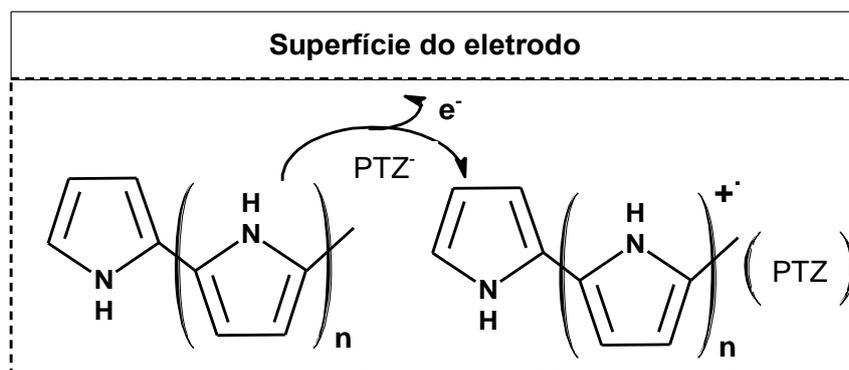


FIGURA 25 - Dopagem do filme de PPy com os íons do fármaco pantoprazol sódico sesquidratado (PTZ⁻).

A formação do filme de polipirrol a partir de seu monômero pode ser realizada utilizando-se diferentes procedimentos. Os mais difundidos na literatura são os métodos potenciodinâmico e galvanostático [74].

O método galvanostático consiste na aplicação de uma determinada corrente elétrica fixa, previamente avaliada durante certo tempo, desenvolvendo uma carga sob a superfície do eletrodo que será proporcional à quantidade de pirrol adicionado que é então depositado sob a forma polimérica.

4.3.1 Parâmetros avaliados durante a eletropolimerização do pirrol

4.3.1.1 Densidade de corrente

A fim se obter o melhor desempenho para o sensor proposto, foram otimizados os principais parâmetros referentes à polimerização do monômero de pirrol em meio de uma solução do fármaco. Um parâmetro avaliado para a

eletropolimerização foi a densidade de corrente aplicada sobre o eletrodo. O comportamento do eletrodo foi avaliado para valores variando entre 0,20 e 2,00 mA cm⁻¹ sendo obtido o perfil representado pela FIGURA 26 em função da sensibilidade (slope) obtida na determinação de pantoprazol.

Paoli *et al.* [75] descrevem que a densidade de corrente esta ligada a estruturação do filme de polipirrol sendo assim necessária uma densidade mínima para uma efetiva polimerização. Valores elevados de densidade de corrente podem estar ligados a uma má formação do filme sob o substrato ou até deformação durante a deposição do filme.

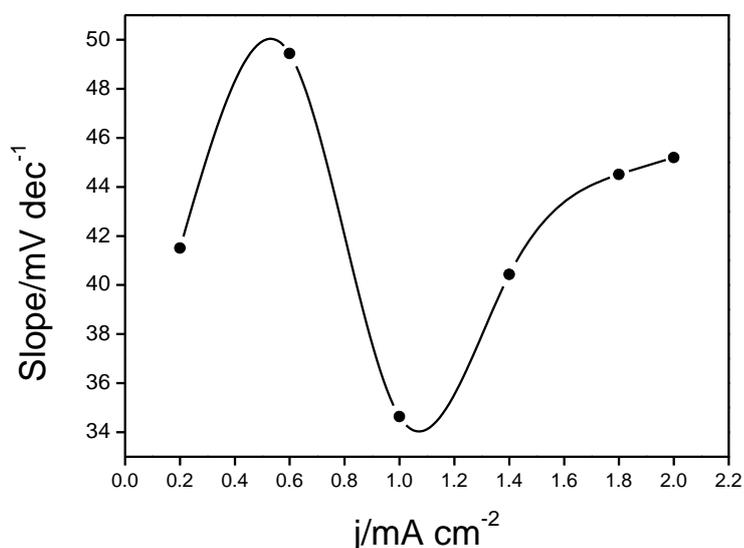


FIGURA 26 - Comportamento do eletrodo modificado frente a diferentes densidades de corrente para o pantoprazol utilizando carga de 200 mC em diferentes tempos.

Em função da maior sensibilidade obtida, escolheu-se trabalhar com uma densidade de corrente de 0,60 mA cm⁻¹ para os estudos posteriores.

4.3.1.2 Carga

Outro parâmetro avaliado na etapa de eletropolimerização foi a carga aplicada sobre o eletrodo. O comportamento do eletrodo foi avaliado para cargas no intervalo de 50 a 1000 mC obtendo-se o perfil representado pela

FIGURA 27 em função da sensibilidade (slope) obtida na determinação de pantoprazol.

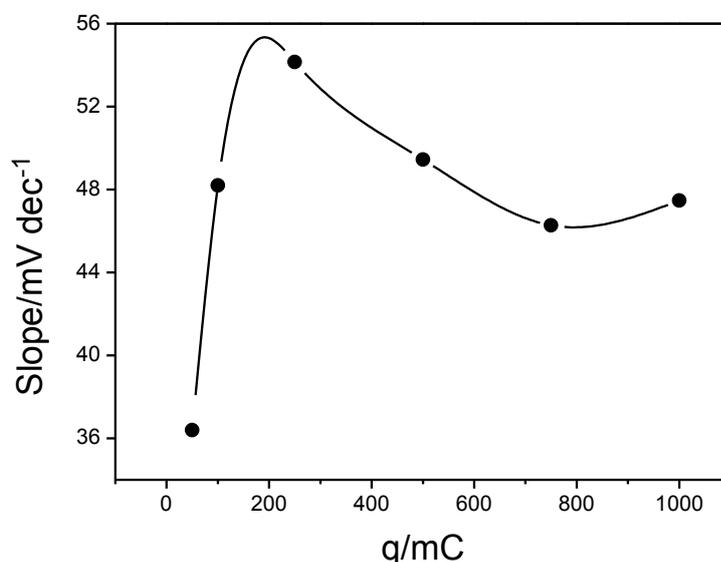


FIGURA 27 - Perfil do EISs frente a diferentes cargas para o fármaco pantoprazol utilizando densidade de corrente $0,6 \text{ mA cm}^{-1}$.

Os valores de sensibilidade aumentaram significativamente até um valor de carga de 250 mC seguidos de uma ligeira queda para valores de carga maiores. Acredita-se que a quantidade de carga que é aplicada no filme é proporcional a quantidade de filme de PPy que é formada na superfície do substrato [43] o que vem de encontro com o comportamento observado já que um grande aumento na quantidade de filme formado pode comprometer a condutividade do sistema grafite-filme de PPy. Sendo assim, para os estudos posteriores a carga de 250 mC foi assumida como ideal.

4.3.1.3 Efeito do condicionamento do eletrodo sobre a resposta

O condicionamento do eletrodo foi investigado em diversos parâmetros, primeiramente foi avaliado o tempo de duração desse condicionamento relacionado com a linearidade obtida e a sensibilidade do procedimento proposto.

A fim de se observar o efeito da dopagem do filme de PPy com os ânions do pantoprazol, o eletrodo já modificado foi acondicionado em uma solução de cloridrato de pantoprazol $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ e a sua sensibilidade avaliada em função do tempo de exposição à essa solução. O intervalo estudado foi de 0 a 24h obtendo-se como resultado a curva descrita na FIGURA 28.

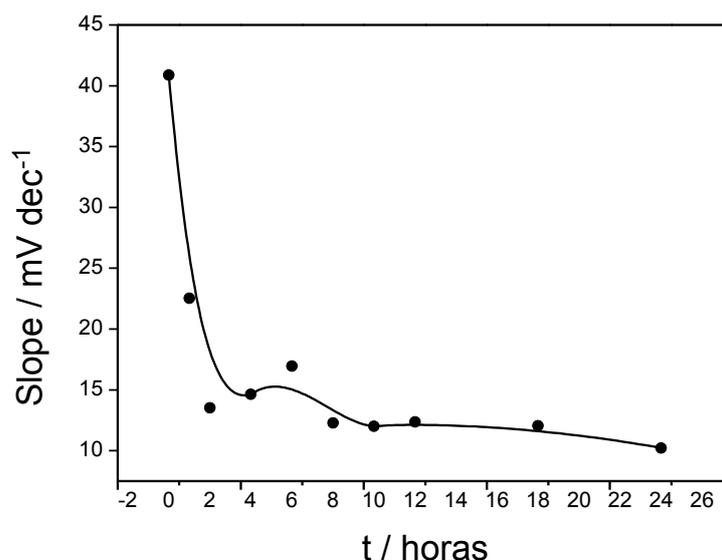


FIGURA 28 - Tempos de condicionamento para o eletrodo modificado variando desde o uso imediato após eletropolimerização até 24h de condicionamento, utilizando densidade de carga $0,6 \text{ mA cm}^{-1}$ e carga 250 mC em sulfato de amônio pH 5,0.

Diferentemente do esperado que seria uma curva sigmoidal estabilizando após um determinado tempo, constatou-se que há um decréscimo na resposta logo após a eletropolimerização do eletrodo. Tal fator foi atribuído à degradação do pantoprazol sódico sesquidratado, que em pH 5, tem meia vida de degradação aproximadamente de 2,8 h [76].

Os valores de sensibilidade (slope) decaíram significativamente com o tempo, indicando que não há a necessidade de condicionar o eletrodo em uma solução do fármaco para a intercalação dos contra-íons do pantoprazol sódico antes das medidas. Essa característica é importante, pois o eletrodo pode ser utilizado logo após o preparo.

Na TABELA 9, estão elencados os parâmetros otimizados desse método.

TABELA 9 - Resumo dos parâmetros para construção do eletrodo de grafite com filme de polipirrol dopado com pantoprazol sódico sesquidratado.

Parâmetro otimizado	Intervalo estudado	Valor otimizado
Densidade de corrente	0,2 mA cm ⁻² – 2,0 mA cm ⁻²	0,6 mA cm ⁻²
Carga	50 mC – 1000 mC	250 mC
Tempo de condicionamento	0 h – 24 h	0 h

4.3.2 Efeito do eletrólito suporte e pH

Diversas soluções foram avaliadas como eletrólitos suporte tais como: tampão fosfato (pH = 7,0), sulfato de amônio, hidróxido de sódio, ácido nítrico, nitrato de potássio e cloreto de sódio, todos em concentração $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Apesar das soluções avaliadas apresentarem valores diferentes de pH, parâmetro que pode influenciar significativamente na resposta do sensor proposto, esse estudo teve como principal objetivo avaliar a influência dos diferentes íons presente em solução na dopagem do filme de PPy.

O cloreto de sódio como eletrólito suporte proporcionou um slope de $16,06 \text{ mV dec}^{-1}$; o tampão fosfato de $33,47 \text{ mV dec}^{-1}$, ácido nítrico de $13,54 \text{ mV dec}^{-1}$; hidróxido de sódio de $9,33 \text{ mV dec}^{-1}$ e o nitrato de potássio de $33,78 \text{ mV dec}^{-1}$.

Então elegemos o sulfato de amônio, que apresentou uma melhor resposta linear para a determinação de pantoprazol no intervalo de concentração de $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ a $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, com uma sensibilidade de $57,56 \text{ mV dec}^{-1}$ indicando que o ânion SO_4^{2-} não influencia na dopagem do filme de PPy sendo então escolhido para estudos posteriores.

O efeito do pH sobre a resposta do eletrodo foi então avaliado utilizando-se como eletrólito suporte uma solução de sulfato de amônio $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ que teve o valor do pH ajustado no intervalo de 3,0 a 8,0. A FIGURA 29 apresenta os resultados obtidos em termos do slope (sensibilidade) vs. pH.

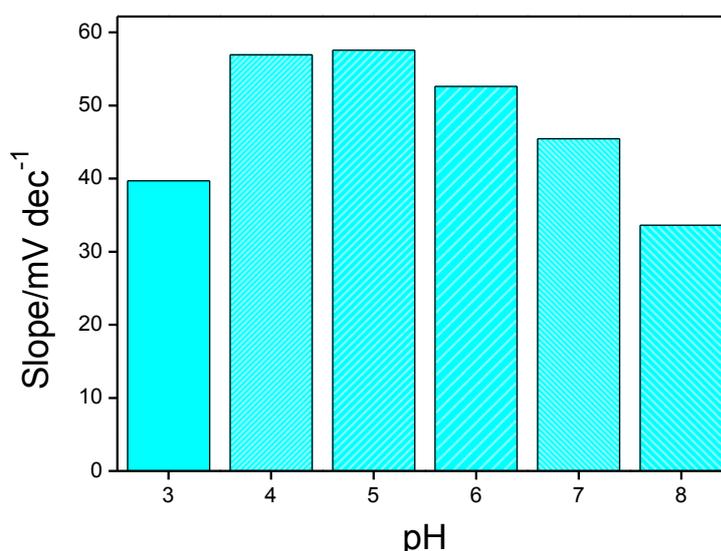


FIGURA 29 - Estudo do comportamento do eletrólito suporte, sulfato de amônio, em diferentes valores de pH.

Os valores do slope aumentaram ligeiramente no intervalo de pH entre 3,0 e 5,0 sofrendo uma queda linear para valores acima de pH 5,0. Assim, uma solução de sulfato de amônio $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ (pH = 5,0) foi escolhida para estudos posteriores.

Vale ressaltar que a degradação do pantoprazol em soluções aquosas é dependente do pH, sendo que a taxa de degradação aumenta com a diminuição do pH. Em pH 5, a meia vida de degradação é de aproximadamente 2,8 h e em pH 7,8 é de 220 h [76]. Apesar do menor tempo de vida do pantoprazol em pH 5,0, este foi suficiente para realizar as medidas potenciométricas sem perda significativa do sinal por conta da degradação.

O pantoprazol também apresenta instabilidade frente à presença de diversos sais em solução aquosa, como cloreto de sódio, ácido cítrico, citrato trissódico, citrato monossódico, bicarbonato de sódio e carbonato de cálcio, em diferentes concentrações e valores de pH e as condições de armazenamento mais adequadas para diminuir a degradação do fármaco são pH 10 e 4 °C [77].

Mesmo o pantoprazol sendo degradado em pH 5, ele mantém sua concentração até 2,8 h, tempo hábil para fazer uma análise do fármaco.

4.3.3 Estudo de repetibilidade e reprodutibilidade

Foi realizado o estudo da repetibilidade do eletrodo de grafite modificado com pantoprazol sódico. Este estudo refere-se a realização das medidas sob parâmetros já definidos, realizados em cadeia, em um mesmo laboratório, por um mesmo operador, utilizando o mesmo equipamento. A repetibilidade foi estimada considerando-se 6 medições sucessivas realizadas com o mesmo eletrodo em uma mesma solução contendo eletrólito suporte com concentração de $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ nas mesmas condições da curva analítica (FIGURA 30).

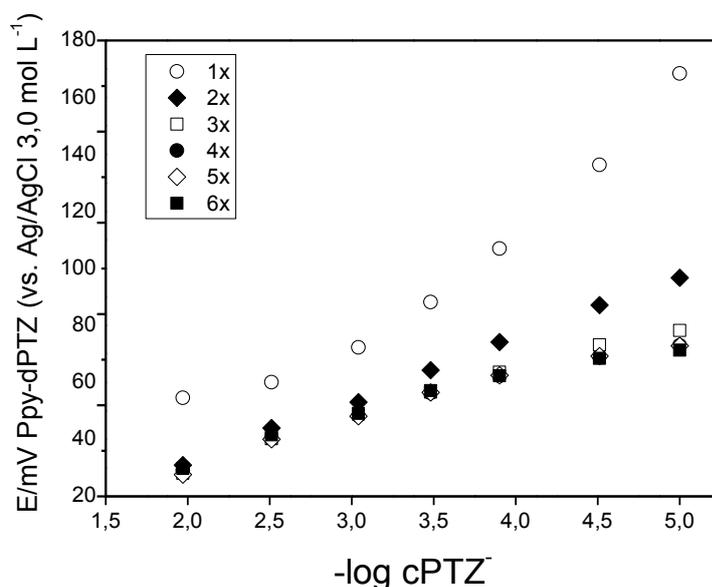


FIGURA 30 - Repetibilidade de um eletrodo modificado com PPy para determinação do fármaco pantoprazol sódico sesquidratado ($n = 6$) utilizando densidade de carga $0,6 \text{ mA cm}^{-1}$ e 250 mC .

A partir da terceira até a sexta medida, podemos notar uma repetibilidade maior dos resultados, mas com sensibilidade menor (slope de $\geq 15 \text{ mV dec}^{-1}$) provavelmente devido ao tempo de exposição do eletrodo à solução com pH 5,0, levando a sua degradação conforme já discutido

anteriormente. Como na primeira medida encontrou-se uma resposta quase nernstiana, cerca de 57 mV dec^{-1} , optou-se que o eletrodo seja utilizado como descartável, uma vez que sua construção é simples e rápida.

Foi realizado o estudo da reprodutibilidade do eletrodo, referindo-se a realização das análises em condições diferentes: 6 eletrodos diferentes, para cada eletrodo construído faz-se medições em eletrólitos suporte contendo $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, realizadas em dias diferentes, com operadores diferentes e equipamentos também diferentes nas condições consideradas otimizadas. De acordo com os resultados apresentados na FIGURA 31, foi calculado a estimativa do desvio padrão relativo $\text{DPR} = 1,15$. O coeficiente de correlação (r^2) foi de 0,9976.

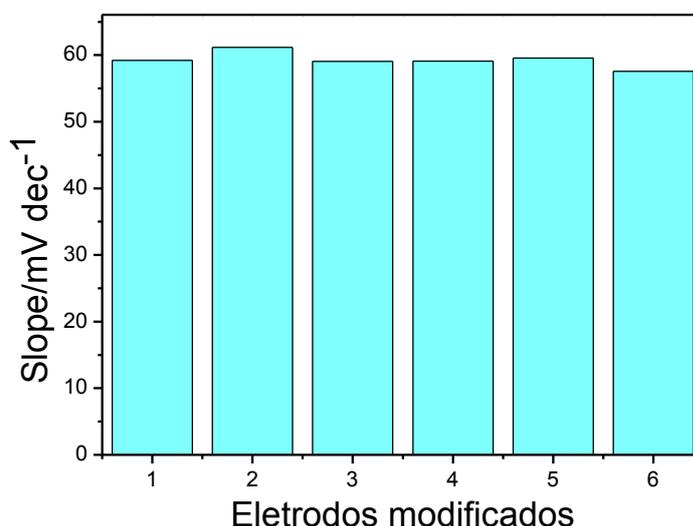


FIGURA 31 - Reprodutibilidade do eletrodo para determinação do fármaco pantoprazol sódico sesquiidratado utilizando densidade de carga $0,6 \text{ mA cm}^{-1}$ e 250 mC ($n = 6$).

A partir dos resultados obtidos em termos de reprodutibilidade observou-se que o sensor apresenta uma ótima concordância entre os resultados para diferentes eletrodos, o que viabiliza seu uso de forma descartável, conferindo assim uma maior sensibilidade ao procedimento proposto. A estimativa de custo para cada construção do eletrodo foi de aproximadamente R\$ 0,30.

4.3.4 Curva analítica para determinação de pantoprazol

Após a otimização das condições operacionais, medidas potenciométricas foram realizadas a fim de se obter uma curva analítica. Foi utilizado um eletrodo de grafite escolar 2 mm do tipo HB modificado por eletropolimerização de uma solução de pirrol e pantoprazol $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pelo método galvanostático, utilizando $0,6 \text{ mA cm}^{-1}$ e 250 mC e imerso em $10,0 \text{ mL}$ de eletrólito suporte sulfato de amônio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. Adições de diferentes concentrações do fármaco foram realizadas e os valores de potencial registrados após sua estabilização (FIGURA 32).

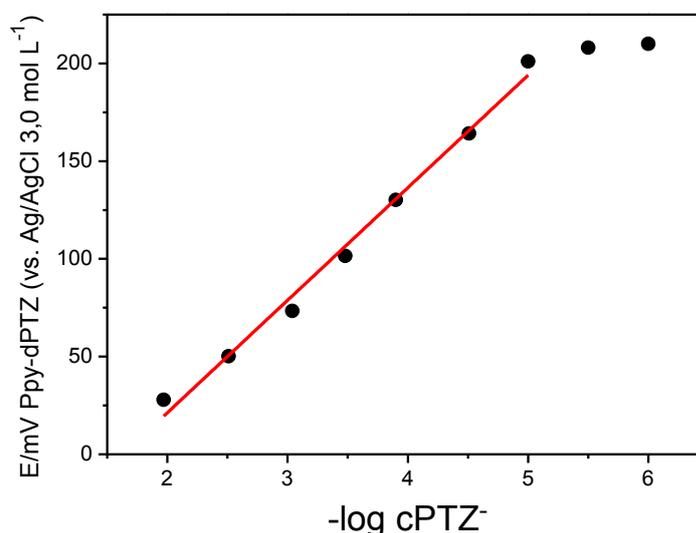


FIGURA 32 - Curva analítica com valores de potencial obtidos para diferentes concentrações do fármaco pantoprazol sódico sesquidratado utilizando densidade de carga $0,6 \text{ mA cm}^{-1}$ e 250 mC .

Os registros dos valores de potencial geraram uma relação linear com o logaritmo da concentração de pantoprazol no intervalo de $9,90 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,08 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$, representada pela equação $E / \text{mV} = -93,9 + 57,6(\text{pPTZ})$; onde pPTZ representa o logaritmo negativo da concentração de pantoprazol com um coeficiente de correlação de 0,9892 e um LOD de $9,90 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 3$) e um LOQ de $3,3 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ($n = 10$).

4.3.5 Aplicação do sensor em amostras reais

O método de adição padrão foi utilizado devido à possibilidade de minimizar o efeito da matriz nas análises das amostras do fármaco comercial. As curvas analíticas para a determinação do pantoprazol sódico foram construídas na faixa linear de $9,9 \times 10^{-6} \text{ mol L}^{-1}$ a $1,08 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$. Para tanto, foi analisada uma amostra comercial com $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ realizando, após a leitura da amostra, três adições ($n = 3$) de padrões do fármaco.

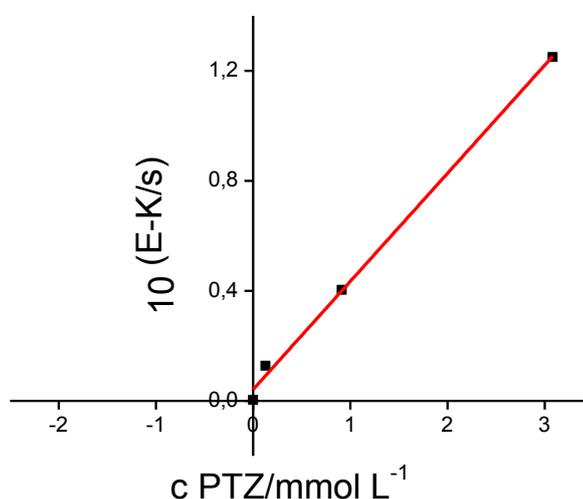


FIGURA 33 - Curva analítica com valores de potencial obtidos para diferentes concentrações do fármaco pantoprazol sódico sesquidratado e determinação da concentração de um comprimido comercial do fármaco.

Esse método proposto foi aplicado na determinação de pantoprazol sódico sesquidratado em uma formulação farmacêutica comercial e os resultados foram comparados com aqueles obtidos empregando-se o método comparativo de titulação potenciométrica recomendado pela Farmacopeia Brasileira [19]. A TABELA 10 apresenta os resultados obtidos para essas determinações.

TABELA 10 - Teores de pantoprazol sódico sesquiidratado obtidos empregando-se o método de referência [21] em comparação aos métodos propostos.

Pantoprazol sódico sesquiidratado (mg/comprimido)				
Amostra	Rotulado	Referência	Método potenciométrico utilizando eletrodo de grafite modificado com PPy e Pantoprazol	DPR (%)
Genérico	40	34 ± 9	42 ± 0,3	-17,6

* n =3; DPR = Potenciométrico vs. Referência.

Apesar dos valores de erro relativo ser considerados significativos, podemos afirmar que os procedimentos proposto pode ser adotados para a análise de pantoprazol sódico sesquiidratado em formulações farmacêuticas uma vez que a Farmacopeia Brasileira admite um erro da ordem de 10% para procedimentos deste tipo em virtude dos erros associados ao procedimento de referência. Também por conta dos prováveis erros associados ao método de referência da FB, podemos adotar com maior confiabilidade o valor rotulado pelos fabricantes que é de 40 mg por comprimido. Nesse caso, o desvio padrão relativo do procedimento proposto com relação ao valor rotulado seria de 4,76% para o procedimento potenciométrico utilizando eletrodo de grafite modificado com pirrol e pantoprazol.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Os métodos condutométrico e potenciométrico propostos para a determinação de cloridrato de propranolol e cloridrato de diltiazem em formulações farmacêuticas mostraram-se simples, preciso, exato e de baixo custo. A metodologia proposta é, substancialmente, menos onerosa que a metodologia oficial, além de necessitar de menor tempo de operação, bem como, mais fácil manuseio das amostras.

Ademais, as amostras foram analisadas sem a necessidade de tratamento especial ou do emprego de algum tipo de reagente orgânico, muitas vezes de média ou alta toxicidade, podendo assim ser aplicado em laboratórios de análise de rotina garantindo também uma geração mínima de resíduos, os quais podem ser facilmente tratados.

Em relação à análise de formulações farmacêuticas comerciais, observou-se que os métodos propostos apresentam precisão adequada dentro dos requisitos exigidos pela Farmacopeia Brasileira. Por isso, o método provou ser útil para a análise tanto de matéria-prima quanto de formulações farmacêuticas contendo propranolol e diltiazem, sendo uma alternativa aos métodos mais caros atualmente em uso.

Quanto ao procedimento descrito para a determinação do fármaco anti-ulceroso pantoprazol sódico sesquidratado, podemos considerar um método alternativo para a determinação desse fármaco, mais viável para a pesquisa científica do que para uma farmácia de manipulação. O método desenvolvido utiliza um eletrodo de grafite escolar, facilmente encontrado em qualquer estabelecimento, e para sua modificação utiliza-se um filme de polipirrol dopado com ânions do próprio fármaco, que logo em seguida pode já ser utilizado, levando aproximadamente 10 min para o seu preparo. As metodologias se mostraram muito versáteis em comparação com procedimentos relatados na farmacopeia brasileira e pode-se dizer que são bastante viáveis principalmente levando-se em conta a simplicidade, a rapidez da análise e o baixo custo da instrumentação utilizada.

6 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Durante a finalização do trabalho desenvolvido até o presente momento, novas perspectivas de pesquisa surgiram englobando esses tópicos estudados nessa dissertação.

O desenvolvimento de metodologias analíticas para a determinação dos fármacos cloridrato de propranolol e cloridrato de diltiazem utilizando um eletrodo indicador modificado com nanopartículas de prata, que devem ser mais sensíveis que o eletrodo de fio de prata utilizado nesse trabalho, podendo melhorar o desempenho dos resultados.

Para a metodologia da determinação potenciométrica com eletrodo quimicamente modificado podemos utilizar outros fármacos com a mesma característica do pantoprazol sódico sesquidratado para o preparo destes utilizando polipirrol.

REFERÊNCIAS

- [1] Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A. **Principles of Instrumental Analysis**. 5th ed. New York: Saunders College, 1997. p. 300-354.
- [2] Wang, J. **Analytical Electrochemistry**. VCH Publishers: New York, 1994.
- [3] Galli, A. Utilização de técnicas eletroanalíticas na determinação de pesticidas em alimentos. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, fev. 2006.
- [4] Richter, P.; Toral, M. I.; Vargas, F. M. Polarographic behaviour and determination of ranitidine in pharmaceutical formulations and urine. **Analyst**, 1994. p. 119, 371.
- [5] Tunçel, M.; Yazan, Y.; Dogrukol, D.; Atkosar Z. A. Polarographic Study on Dipyridamole and its Determination in Comercial Tablets. **Analytical Letters**, v. 24, n. 10, 1991.
- [6] Duran, N. Tecnologia de nanocristais em fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 1, 2010.
- [7] **Boas Práticas de Fabricação na Indústria Farmacêutica**. Disponível em <<http://www.jfpharma.com.br/bpf.html>>. Acesso em: 25/03/2012.
- [8] Vogel, A. I. **Química Analítica Quantitativa**. 5th ed. LTC, 1992.
- [9] Linarelli, M. C. B. Análise do uso racional de medicamentos anti-hipertensivos utilizados em hospital-escola. **Revista de Ciências Médicas**, Campinas, v. 18, n. 4, p. 193-200, 2009.
- [10] Schroeter. Terapia anti-hipertensiva utilizada por pacientes idosos de Porto Alegre/RS, Brasil. **Scientia Medica**, Porto Alegre, v. 17, n. 1, p. 14-19, 2007.

[11] Fleming, I.; Goetten, L. F. Medicamentos mais utilizados pelos idosos: implicações para a enfermagem. **Arquivos de Ciências da Saúde da Unipar**, Umuarama, v. 9, n. 2, p. 121-128, 2005.

[12] **IV Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial**, v. 82, suplemento IV, p. 1-9, 2004.

[13] Hamet, P. The burden of blood pressure: where are we and where should we go?, **Can Cardiol**, v. 16, n. 4, p. 1483-1487, 2000.

[14] Korolkovas, A.; Burckhalter, J. H. **Química Farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 783, 1988.

[15] Külkam, I. **Avaliação da qualidade de cápsulas manipuladas de antihipertensivos. Validação de metodologias analíticas: Titulométrica, espectrofotométrica e cromatográfica**. Dissertação de Mestrado. Química Analítica. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.

[16] Comitê Olímpico Brasileiro, Departamento Médico. **Uso de medicamentos no esporte**. 3th, Rio de Janeiro, Brasil, 2003.

[17] Chalmers J. Who-ish Hypertension Guidelines Committee. World Health Organization - International Society of Hypertension Guidelines for the Management of Hypertension. **Journal of Hypertension**, v. 17, p. 151-185, 1999.

[18] Ayad, M. M.; Shalaby, A.; Abdellateff, H. E.; Hosny, M. M. New colorimetric methods for the determination of trazodone HCl, famotidine, and diltiazem HCl in their pharmaceutical dosage forms. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 376, n. 5, p. 710-714, 2003.

[19] Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: ANVISA, **Farmacopeia Brasileira**, v. 2, 2010.

[20] **The United States Pharmacopeia**, USP, 2011.

[21] **British Pharmacopoeia**, London: The Stationery Office, 2012.

[22] **European Pharmacopoeia**, EP, 2010.

[23] **Tabela de remédios do Programa Aqui Tem Farmácia Popular**. Disponível em <<http://www.correiadoestado.com.br/userfiles/tabela-remedios.pdf>>. Acesso em 25/03/2012.

[24] Partani, P.; Modhave, Y.; Gurule, S.; Khuroo, A.; Monif, T. Simultaneous determination of propranolol and 4-hydroxy propranolol in human plasma by solid phase extraction and liquid chromatography/electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 50, n. 5, p. 966-976, Dec. 2009.

[25] Rekhi, G. S.; Jambherkar, S. S.; Souney, P. F.; Williams, D. A. A fluorimetric liquid chromatographic method for the determination of propranolol in human serum/plasma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 13, n. 12, p. 1499-1505, Nov. 1995.

[26] El-Emam, A. A.; Belal, F. F.; Moustafa, M. A.; El-Ashry, S. M.; El-Sherbiny, D. T.; Hansen, S. H. Spectrophotometric determination of propranolol in formulations via oxidative coupling with 3-methylbenzothiazoline-2-one hydrazone, **II Farmaco**, v. 58, n. 11, p. 1179-1186, Nov. 2003.

[27] Ruiz, T. P.; Martínez-Lozano, C.; Tomás, V.; Carpena, J. Simultaneous determination of propranolol and pindolol by synchronous spectrofluorimetry. **Talanta**, v. 58, n. 5, p. 969-976, Mar. 1998.

[28] El-Ries, M. A.; Abou Attia, F. M.; Ibrahim, S. A. AAS and spectrophotometric determination of propranolol HCl and metoprolol tartrate. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.24, n.2, p. 179-187, Dec. 2000.

- [29] Alvarez, A.; Costa, J. M.; Pereiro, R.; Sanz-Medel, A. Reusable phosphorescent probes based on molecularly imprinted polymers for the determination of propranolol in urine. **Sensors and Actuators B. Chemical**, v. 168, n.20, p.370-375, Jun. 2012.
- [30] Sartori, E. R.; Medeiros, R. A.; Rocha-Filho, R. C.; Fatibello-Filho, O. Square-wave voltammetric determination of propranolol and atenolol in pharmaceuticals using a boron-doped diamond electrode. **Talanta**, v. 81, n. 4–5, p. 1418-1424, Jun. 2010.
- [31] El-Ries, M. A.; Abou-Sekkina, M. M.; Wrassel, A. A. Polarographic determination of propranolol in pharmaceutical formulation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 30, n. 3, p. 837-842, Oct. 2002.
- [32] Zhou, X.; Li, X.; Zeng, Z. Solid-phase microextraction coupled with capillary electrophoresis for the determination of propranolol enantiomers in urine using a sol–gel derived calix[4]arene fiber. **Journal of Chromatography A**, v. 1104, n. 1-2, p. 359-365, Feb. 2006.
- [33] **Bula do cloridrato de diltiazem.** Disponível em <http://www.globalrph.com/diltiazem_dilution.htm>. Acesso em 25/03/2012.
- [34] Hubert, P.; Chiap, P.; Crommen, J. Automatic determination of diltiazem and desacetyldiltiazem in human plasma using liquid-solid extraction on disposable cartridges coupled to HPLC — Part I: Optimization of the HPLC system and method validation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 9, n. 10-12, p. 877-882, 1991.
- [35] Dasandi, B.; Shah, S.; Shivprakash. Development and validation of a high throughput and robust LC–MS/MS with electrospray ionization method for simultaneous quantitation of Diltiazem and its two metabolites in human plasma: Application to a bioequivalence study. **Journal of Chromatography B**, v. 877, n. 8-9, p. 791-798, Mar. 2009.

[36] Alebić-Kolbah, T.; Plasvić, F. Determination of serum diltiazem concentrations in a pharmacokinetic study using gas chromatography with electron capture detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 8, n. 8-12, p. 915-918, 1990.

[37] Rahman, N.; Azmi, S. N. H. Spectrophotometric determination of diltiazem hydrochloride with sodium metavanadate. **Microchemical Journal**, v. 65, n. 1, p. 39-43, Jul. 2000.

[38] Sanchez, M. A.; Rocha, F. R. Liquid-liquid microextraction without phase separation in a multicommuted flow system for diltiazem determination in pharmaceuticals. **Analytica Chimica Acta**, v. 694, n. 1-2, p. 95-99, May 2011.

[39] Ghandour, M. A.; Kasim, E. A.; Ali, A. M. M.; Adsorptive stripping voltammetric determination of antihypertensive agent: Diltiazem. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 25, n. 3-4, p. 443-451, Jun. 2001.

[40] Di Carlo, I.; Toro, A.; Sparatore, F.; Primo, S.; Barbagallo, F.; Di Blasi, M. Emergency gastric ulcer complications in elderly. Factors affecting the morbidity and mortality in relation to therapeutic approaches. **Minerva Chirurgica**, v. 61, n. 4, p. 325-332, Aug. 2006.

[41] Machado, MB. **Úlcera péptica no idoso: aspectos clínicos, complicações e características endoscópicas**. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Medicina. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1995.

[42] Dubois, R. W.; Melmed, G. Y.; Henning, J. M.; Bernal, M. Risk of Upper Gastrointestinal Injury and Events in Patients Treated With Cyclooxygenase (COX)-1/COX-2 Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs (NSAIDs), COX-2 Selective NSAIDs, and Gastroprotective Cotherapy An Appraisal of the Literature. **Journal of Clinical Rheumatology**, v. 10, n. 4, p. 178-189, Aug. 2004.

[43] Fuchs, F. D.; Wannmacher, L.; Ferreira, M. B. C. **Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional**. 3th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

[44] Hobsley, M.; Tovey, F.; Holton, J. Precise role of *H. pylori* in duodenal ulceration. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, n. 40, p. 6413-6419, Oct. 2006.

[45] Howden, C. W.; Blume, S. W.; de Lissovoy, G. Practice Patterns for Managing *Helicobacter pylori* Infection and Upper Gastrointestinal Symptoms. **The American Journal of Managed Care**, v. 13, n. 1, p. 37-44, Jan. 2007.

[46] Insúa, J.; Mavros, P.; Hunsche, E.; Kong, S.; Tiabaudin-Agver, O. Exposure to Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs Among Older Adult Patients Hospitalized for Peptic Ulcer Disease in Argentina: A Case-Control Study. **The American Journal Geriatric Pharmacotherapy**, v. 4, n. 3, p. 251-259, Sep. 2006.

[47] Yeomans, N. D.; Svedberg, L. E.; Naesdal, J. Is ranitidine therapy sufficient for healing peptic ulcers associated with non-steroidal anti-inflammatory drug use? **International Journal of Clinical Practice**, v.60, n. 11, p. 1401-1407, Nov. 2006.

[48] Hallas, J.; Dall, M.; Andries, A.; Andersen, B. S.; Aalykke, C.; Hansen, J. M.; Andersen, M.; Lassen, A. T. Use of single and combined antithrombotic therapy and risk of serious upper gastrointestinal bleeding: population based case-control study. **BMJ**, v. 333, p. 726-728, Oct. 2006.

[49] Venerito, M.; Treiber, G.; Wex, T.; Kuester, D.; Roessner, A.; Di Mario, F.; Malfertheiner, P. Effects of low-dose aspirin on gastric erosions, cyclooxygenase expression and mucosal prostaglandin-E2 do not depend on *Helicobacter pylori* infection. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 23, n. 8, p. 1225-1233, Apr. 2006.

[50] Yuang, Y.; Padol, I.; Hunt, R. Peptic ulcer disease today. **Nature Clinical Practice**, v. 3, n. 2, p. 80-89, Feb. 2006.

[51] Bhaskara, B. L.; Anil, K. U. R.; Basavaiah, K. Sensitive liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of pantoprazole sodium in human urine. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 4, n. 2, p. 163-168, Apr. 2011.

[52] Moustafa, AA. Spectrophotometric methods for the determination of lansoprazole and pantoprazole sodium sesquihydrate. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 22, n. 1, p. 45-58, Feb. 2000.

[53] Radi, A. Determination of pantoprazole by adsorptive stripping voltammetry at carbon paste electrode. **Farmaco**, v. 58, n. 7, p. 535-539, Jul. 2003.

[54] Erk, N. Differential pulse anodic voltammetric determination of pantoprazole in pharmaceutical dosage forms and human plasma using glassy carbon electrode. **Analytical Biochemistry**, v. 323, n. 1, p. 48-53, Dec. 2003.

[55] Schirmer, R. E. **Modern Methods of Pharmaceutical Analysis**. CRC Press, Florida, USA, 1982.

[56] **Web of Knowledge**. Disponível em <<http://www.apps.isiknowledge.com/>>. Acesso em 24/03/2012. Palavras-chave para esta pesquisa foram: (a) métodos de separação, métodos espectrais e métodos eletroquímicos (b) voltametria, potenciometria, amperometria, coulometria e condutometria.

[57] Pletcher, D.; Greff, R.; Peat, R.; Peter, L.M. **Instrumental Methods in Electrochemistry**. Southampton Electrochemistry Group, University of Southampton, ed. Wiley & Sons, 1985.

[58] Bagotsky, V. S. **Fundamentals of Electrochemistry**. 2th ed. Wiley & Sons, 2006

[59] Denaro, A. R. **Fundamentos de Eletroquímica**. ed. Edgard Blücher Ltda São Paulo, 1974.

[60] Ohlweiler, O. A. **Fundamentos da Análise Instrumental**. ed. LTC. Rio de Janeiro, 1981.

[61] Martins, J. V.; Souza, A. P. R.; Salles, M. O.; Serrano, S. H. P. Determinação de ácido acético em amostra de vinagre adulterada com ácido clorídrico - um experimento integrado de titulação potenciométrica e condutométrica, **Química Nova**, v. 33, n. 3, São Paulo, 2010.

[62] Lourenção, B. C.; Marcolino-Junior, L. H.; Fatibello-Filho, O. Determinação condutométrica de Captopril em formulações farmacêuticas utilizando sulfato de cobre (II) como titulante. **Química Nova**, v. 31, n. 2, São Paulo, 2008.

[63] Sartori, E. R.; Suarez, W. T.; Fatibello-Filho, O. Determinação condutométrica de cloridrato de metformina em formulações farmacêuticas empregando nitrato de prata como titulante. **Química Nova**, v. 32, n. 7, São Paulo, 2009.

[64] Mermet, K. R.; Otto, M.; Widmer, H. M. **Analytical Chemistry**. Weinheim, Germany: Wiley – VCH, Verlag GmbH, p. 25, 1998.

[65] Fernandes, J. C. B.; Kubota, L. T.; Neto, G. O. Eletrodos íon-seletivos: histórico, mecanismo de resposta, seletividade e revisão dos conceitos. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 120-130, 2001.

[66] Couto, C. M. C. M.; Montenegro, C. B. S. M.; Reis, S. Complexação da tetraciclina, da oxitetraciclina e da clortetraciclina com o catião (II). Estudo potenciométrico. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 1-4, 2000.

[67] Trojanowicz, M.; Alexander, P. W.; Hibbert, D. B. Flow-injection analysis with potentiometric detection for the speciation of fluoride and calcium. **Analytica Chimica Acta**, v. 366, n. 1-3, p. 23-33, Jun. 1998.

[68] Bakker, E.; Pretsch, E. Trace level potentiometry. **Analytical Chemistry**, v. 74, p. 420-426, 2002.

[69] Fernandes, J. C. B.; Kubota, L. T. Eletrodos íon-seletivos: histórico, mecanismo de resposta, seletividade e revisão dos conceitos. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 120-130, 2001.

[70] Torres, K. Y. C.; Marzal, P. C.; Kubota, L. T.; Backer, E. Recentes avanços e novas perspectivas dos Eletrodos Íon-Seletivos. **Química Nova**, v. 29, n. 5, São Paulo, 2006.

[71] Dias, I. L. T. **Construção e avaliação de eletrodos íon-seletivos à furosemida**. Tese de Doutorado. Química Analítica. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Universidade de São Paulo. São Paulo, 2004.

[72] Kubota, L. T.; Torres, K. Y. C.; de Oliveira, B. Determinação de heparina em fármaco por sensor potenciométrico. **XI Congresso Interno de Iniciação Científica da Unicamp**, Instituto de Química, Set. 2003.

[73] Arantes, C.; Rocco, M. L. M.; da Cruz, A. G. B.; Rocco, A. M. Dessorção iônica e degradação de filmes de polipirrol dopado com dodecilsulfato induzidas por elétrons de alta energia. **Química Nova**, v. 31, n. 1, São Paulo, 2008.

[74] Hasse, E. E. S. **Remoção de Cobre II em eletrodos de platina-polipirrol e carbono vítreo reticulado**. Dissertação de Mestrado. Instituto de Química. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 1998.

[75] de Paoli, M. A.; Peres, R. C. D.; Panero S.; Scrosati, B. Properties of Electrochemically Synthesized Polymer Electrodes-X. Study Of

Polypyrrole/Dodecylbenzene Sulfonate. **Electrochimica Acta**, v. 37, n. 7, p. 1173-1182, Jun. 1992.

[76] Jungnickel, P. W. Pantoprazole: a new proton pump inhibitor. **Clinical Therapeutics**, v. 22, n. 11, p. 1268-1293, Nov. 2000.

[77] Ekpe, A.; Jacobsen, T. Effect of various salts on the stability of lansoprazole, omeprazole, and pantoprazole as determined by high-performance liquid chromatography. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 25, n. 9, p. 1057-1065, Sep. 1999.