

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

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DO
CLORIDRATO DE RANITIDINA EM MEDICAMENTOS

ELIANE MARIA DE ALMEIDA ORSINE

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientador:

Prof. Dr. JORGE LUIZ SEFERIN MARTINS

São Paulo

1992

Aos meus pais Elias e Terezinha, aos meus irmãos Tadeu, Reinaldo, Jane e Delane, aos meus cunhados e aos meus sobrinhos, por tudo o que representam.

Ao prof. Jorge Luiz Seferin Martins, pela
orientação, amizade e compreensão.

Ao prof. João Fernandes Magalhães,
pelo grande estímulo.

À prof^a Lúcia Emy Teixeira dos Santos,
pelo constante incentivo e pela valiosa amiza
de.

Às amigas Lucimara, Lílian, Izabel,
Cristina, Luciane e Luciene, pelo carinhoso
convívio.

AGRADECIMENTOS

À profª Érika R. M. Hackmann, pelo valioso apoio durante a realização deste trabalho e pelos constantes esclarecimentos.

À profª Maria Inês R. M. Santoro, pela confiança demonstrada por ocasião do encaminhamento de pedido de recursos para a conclusão deste trabalho e pelos valiosos esclarecimentos.

Ao prof. Massayoshi Yoshida, pela confiança demonstrada por ocasião do encaminhamento de pedido de recursos para a conclusão do presente trabalho.

Ao prof. Yukino Miyata, pelo carinho, pelas valiosas sugestões e pela amizade.

Ao prof. Wolfgang Seidel, pelos valiosos e pacientes esclarecimentos.

À farmacêutica Akimi Mori Honda, pela colaboração ao longo deste trabalho.

Aos companheiros: Márcia, Valéria, Hyun, Salete, Virgínia, Estela, Elton, Ana Maria, Lousã, Cristina, Marlene, Lucília e Vladi, pela colaboração e amizade.

À Íria R. da Silva, Márcia Vallim, Maria Lúcia F. Conceição e Regina Rojas, pela amizade e pela atenção.

À Elisabete Claro de Souza Paiva, secretária do curso de Pós-graduação em Fármaco e Medicamentos, pela atenção dispensada ao longo deste trabalho.

À bibliotecária Moema Rodrigues dos Santos, pela cuidadosa revisão das referências bibliográficas.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo , FAPESP, pelos recursos financeiros que possibilitaram a realização deste trabalho.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

ELIANE MARIA DE ALMEIDA ORSINE

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DO CLORIDRATO DE RANITIDINA EM
MEDICAMENTOS

COMISSÃO JULGADORA

DISSERTAÇÃO PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE
MESTRE

Presidente e Orientador

2º Examinador

3º Examinador

São Paulo, de de 1992

ÍNDICE

1 - INTRODUÇÃO	1
2 - REVISÃO DA LITERATURA	4
2.1 - GENERALIDADES	4
2.2 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS	5
2.3 - METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DA RANITIDINA	5
2.3.1 - MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO	5
2.3.1.1 - CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA	5
2.3.1.2 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	6
2.3.1.3 - ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA	6
2.3.2 - MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA EM MEDICAMENTOS	7
2.3.2.1 - ESPECTROFOTOMETRIA UV/VIS	7
2.3.2.2 - CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFI- CIÊNCIA	9
2.3.2.3 - TITULAÇÃO EM MEIO NÃO AQUOSO	9
2.3.2.4 - MÉTODOS ELETROQUÍMICOS	9
2.3.2.4.1 - POLAROGRAFIA	9
2.3.2.4.2 - POTENCIOMETRIA	11
2.3.4 - MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA EM FLUIDOS BIOLÓGICOS	12
2.4 - UTILIZAÇÃO DO REATIVO MBTH EM ESPECTRO- FOTOMETRIA NO VISÍVEL	13
3 - PROPOSIÇÃO	15
4 - PLANEJAMENTO DA PESQUISA	16
5 - PARTE EXPERIMENTAL	17
5.1 - MATERIAL	17
5.1.1 - REAGENTES E SOLUÇÕES	17

5.1.2 - FÁRMACO UTILIZADO COMO SUBSTÂNCIA DE REFERÊNCIA	17
5.1.3 - AMOSTRAS	17
5.1.4 - EQUIPAMENTOS	19
5.2 - MÉTODOS	20
5.2.1 - ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLE- TA	20
5.2.1.1 - PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO	20
5.2.1.2 - APLICAÇÃO DO MÉTODO PADRONIZADO A AMOSTRAS COMERCIAIS E SIMULA- DAS	21
5.2.1.2.1 - PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PAR- TIR DOS EXCIPIENTES	21
5.2.1.2.2 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORIDRA- TO DE RANITIDINA	23
5.2.1.3 - TESTE DE RECUPERAÇÃO	24
5.2.2 - ESPECTROFOTOMETRIA NO VISÍVEL	26
5.2.2.1 - PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO	26
5.2.2.1.A - ESTUDO DOS PRINCIPAIS FATORES QUE INFLUENCIAM A REAÇÃO	26
5.2.2.1.A.1 - DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO Ó- TIMA DE MBTH E CLORETO FÉRRICO	26
5.2.2.1.A.2 - DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA SOLUÇÃO DE HCl UTILIZADA COMO SOLVENTE	28
5.2.2.1.A.3 - DETERMINAÇÃO DO TEMPO NECESSÁ- RIO PARA A ESTABILIZAÇÃO DA RE- AÇÃO	30
5.2.2.1.A.4 - VERIFICAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA A- DIÇÃO DE ÁGUA NO DESENVOLVIMEN- TO DA REAÇÃO	31
5.2.2.1.A.5 - DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE ESTABI- LIDADE DA REAÇÃO	32

5.2.2.1.A'	- DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO ESTEQUIOMÉTRICA ENTRE O CLORIDRATO DE RANITIDINA E O MBTH	32
5.2.2.1.B	- DETERMINAÇÃO DO ESPECTRO DE ABSORÇÃO DA REAÇÃO	33
5.2.2.1.C	- CONSTRUÇÃO DA CURVA DE RINGBOM	35
5.2.2.1.D	- CONSTRUÇÃO DA RETA DE CALIBRAÇÃO	37
5.2.2.2	- APLICAÇÃO DO MÉTODO PADRONIZADO A AMOS TRAS COMERCIAIS E SIMULADAS	37
5.2.2.2.1	- PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES	37
5.2.2.2.2	- DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORIDRATO DE RANITIDINA	39
5.2.2.3	- TESTE DE RECUPERAÇÃO	40
6	- RESULTADOS	43
6.1	- ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA	43
6.1.1	- PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO	43
6.1.2	- APLICAÇÃO DO MÉTODO PADRONIZADO A AMOS TRAS COMERCIAIS E SIMULADAS	43
6.1.2.1	- PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES	43
6.1.2.2	- DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORIDRATO DE RANITIDINA	44
6.1.3	- TESTE DE RECUPERAÇÃO	44
6.2	- ESPECTROFOTOMETRIA NO VISÍVEL	57
6.2.1	- PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO	57
6.2.2	- APLICAÇÃO DO MÉTODO PADRONIZADO A AMOS TRAS COMERCIAIS E SIMULADAS	58
6.2.2.1	- PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES	58
6.2.2.2	- DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORIDRATO DE RANITIDINA	58

6.2.3 - TESTE DE RECUPERAÇÃO	59
7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS	74
7.1 - CÁLCULO DA RETA DE CALIBRAÇÃO	74
7.2 - CÁLCULO DO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO - DETERMINAÇÃO DO CLORIDRATO DE RANITIDINA EM MEDICAMENTOS	78
7.3 - COMPARAÇÃO DA EXATIDÃO E PRECISÃO DOS MÉTODOS PROPOSTOS	82
8 - DISCUSSÃO	87
8.1 - ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA	87
8.1.1 - ESCOLHA DO COMPRIMENTO DE ONDA DE LEITURA	87
8.1.2 - PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES	88
8.2 - ESPECTROFOTOMETRIA NO VISÍVEL	89
8.2.1 - DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO ÓTIMA DE MBTH E CLORETO FÉRRICO	90
8.2.2 - INFLUÊNCIA DO SOLVENTE	91
8.2.3 - TEMPO NECESSÁRIO PARA A ESTABILIZAÇÃO DA REAÇÃO	91
8.2.4 - INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE ÁGUA	92
8.2.5 - TEMPO DE ESTABILIDADE DA REAÇÃO	92
8.2.6 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DO PRODUTO COLORIDO FORMADO	93
8.2.7 - MECANISMO E RELAÇÃO ESTEQUIOMÉTRICA	93
8.2.8 - PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES	94
8.3 - CURVAS DE RINGBOM E RETAS DE CALIBRAÇÃO	95
8.4 - APLICAÇÃO DOS MÉTODOS NA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORIDRATO DE RANITIDINA A AMOSTRAS COMERCIAIS E SIMULADAS	96

8.5 - COMPARAÇÃO DA EXATIDÃO E PRECISÃO DOS DOIS MÉTODOS	96
9 - CONCLUSÕES	99
10 - PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS	10
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
RESUMO	11
SUMMARY	11

1 - INTRODUÇÃO

Os antagonistas dos receptores H_2 da histamina figuram como importantes agentes para o controle da acidez gástrica e tratamento de úlceras pépticas.

O ácido gástrico é secretado pelas células parietais localizadas, principalmente, na porção superior do estômago e é estimulado por três substâncias endógenas: gastrina, acetilcolina e histamina. Gastrina e acetilcolina atuam na liberação da histamina, a qual age sobre os receptores H_2 nas células parietais para estimular a secreção ácida (66).

Os bloqueadores H_2 inibem a secreção ácida gástrica produzida pela histamina ou outros agonistas destes receptores de maneira competitiva. O grau da inibição induzida com doses terapêuticas equivale à concentração plasmática da droga (28, 66).

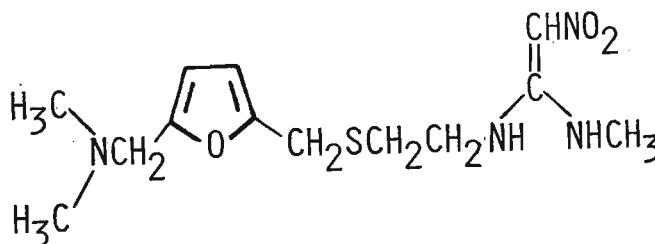
O desenvolvimento dos bloqueadores H_2 teve início a partir da síntese da burimamida, através de uma modificação estrutural da molécula da histamina. Modificações estruturais da molécula da burimamida resultaram em outro fármaco, a metiamida, mais potente que o fármaco anterior. Entretanto, a ocorrência de granulocitopenia em cerca de 1% dos pacientes tratados com metiamida provocou a sua substituição pela cimetidina.

Todos esses compostos possuem estruturas com anel imidazólico, o que não ocorre nos compostos desenvolvidos mais recentemente, como a ranitidina, que possui um furano ou a famotidina e a nizatidina, que possuem um tiazol no lugar daquele anel (28, 41, 89).

A ranitidina foi desenvolvida na década de 70 (56) , e introduzida no mercado em 1981 (34).

A ranitidina (I) corresponde, quimicamente, ao N-[2-[[[5-[(dimetilamino)metil]-2-furanil]metil]tio]etil]-N'-metil-2-nitro-1,1-etenodiamino e é usada como cloridrato.

A fórmula molecular do cloridrato de ranitidina é $C_{13}H_{22}N_4O_3S$. HCl e seu peso molecular é 350,87 (85).



(I)

Como princípio ativo único, o cloridrato de ranitidina é comercializado no Brasil sob as formas farmacêuticas comprimido, solução injetável e xarope (16).

A tabela 1.1 mostra os medicamentos comercializados no Brasil, contendo cloridrato de ranitidina.

Tabela 1.1 - Medicamentos comercializados no Brasil contendo cloridrato de ranitidina

Laboratório	Forma farmacêutica-Apresentação-Composição
A	. Comprimido - Caixas com 10 e 20 unidades - 150mg/comp.*
	- Caixas com 8 unidades - 300mg/comp.*
	. Solução injetável - Caixas com 5 ampolas - 50mg/2mL*
	. Xarope - Frascos com 120mL - 150mg/10mL*
B	. Comprimido - Caixas com 20 unidades - 150mg/comp.*
	- Caixas com 8 unidades - 300mg/comp.*
	. Solução injetável - Caixas com 5 ampolas - 50mg/2mL*
C	. Comprimido - Caixas com 20 e 60 unidades - 150mg/comp.
	- Caixas com 8 unidades - 300mg/comp.
	. Solução injetável - Caixas com 5 ampolas - 50mg/5mL
D e E	. Comprimido - Caixas com 20 unidades - 150mg/comp.

* Expresso em ranitidina base.

Dados: Dicionário de especialidades farmacêuticas 91/92 (16).

2 - REVISÃO DA LITERATURA

2.1 - GENERALIDADES

A ranitidina é um potente inibidor da produção do ácido gástrico basal e da secreção ácida gástrica induzida por uma série de estímulos fisiológicos (29), dentre eles a histamina, a pentagastrina e a acetilcolina (12).

É efetiva para o tratamento de úlceras gástricas e duodenais; é recomendada no tratamento da esofagite de refluxo e das condições hipersecretórias patológicas, como a síndrome de Zollinger-Ellison; tem sido utilizada na prevenção de úlceras de stress e hemorragia do trato gastrointestinal, além da síndrome de aspiração ácida (pneumonite de aspiração), que pode ocorrer durante cirurgias com anestesia geral (17, 29, 44).

A ranitidina é rapidamente absorvida após administração oral ou intravenosa. As concentrações plasmáticas atingem o máximo em torno de duas horas após administração oral e não são influenciadas pelos alimentos; porém, a absorção decresce quando a administração é feita junto com antiácidos (29, 66).

O fármaco tem meia-vida de duas horas e é fracamente ligado a proteínas plasmáticas (em torno de 15%) (17, 29).

Uma pequena proporção de ranitidina é metabolizada no fígado a N-óxido de ranitidina, S-óxido de ranitidina e desmetil-ranitidina, farmacologicamente inativos, mas a maior parte (cerca de 30% da dose administrada oralmente e de 68 a 79% de uma dose intravenosa) é excretada na forma inalterada na urina (17, 29, 44, 66).

Os efeitos adversos são mínimos e pouco frequentes, com incidência menor que 3% e incluem dor de cabeça, erupções cutâneas, náuseas, constipação, vertigens e dores abdominais (17, 66).

Doses usuais de ranitidina só raramente produzem efeitos mais sérios como confusão mental, ginecomastia, hiperprolactinemia, disfunção sexual, bradicardia ou hepatite (17, 29, 66).

O fármaco é contra-indicado em portadores de discrasias sanguíneas, bem como, pela impossibilidade de experimentação clínica, para mulheres grávidas (89).

2.2 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

Ranitidina é comercializada apenas como cloridrato, o qual é bastante solúvel em água e ácido acético, solúvel em metanol, um pouco menos solúvel em etanol, muito fracamente solúvel em acetato de etila e isopropanol, e insolúvel em dioxano e clorofórmio. Apresenta-se sob a forma de um pó amarelado, com leve odor de mercaptano (34, 35).

A ranitidina base e o cloridrato têm faixa de fusão de 69-70°C e 133-134°C, respectivamente (45).

2.3 - METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DETERMINAÇÃO DA RANITIDINA

2.3.1 - MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO

2.3.1.1 - CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Um sistema cromatográfico foi desenvolvido para o cloridrato de ranitidina, utilizando-se acetato de etila - metanol - dietilamina (3:3:1) como fase móvel e sílica gel como fase estacionária. A localização do fármaco, após desenvolvimento do cromatograma, através de lâmpada ultravioleta e exposição a vapores de iodo constituíram o sistema de revelação (35).

A Farmacopéia Americana XXII (85) recomenda a CCD para a identificação do fármaco em injetáveis e comprimidos. A fase estacionária e os sistemas eluente e de detecção indicados no método são sílica gel, acetato de etila - álcool isopropílico - hidróxido de amônio - água (25:15:5:1), e exposição a vapores de iodo, respectivamente.

2.3.1.2 - ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (IV)

O cloridrato de ranitidina foi identificado por espectroscopia no infravermelho com a utilização de pastilhas de brometo de potássio no preparo da amostra (35).

A espectroscopia no IV é um dos métodos recomendados pela Farmacopéia Americana XXII para a identificação do fármaco na matéria-prima. A análise é feita em uma dispersão do cloridrato de ranitidina em óleo mineral (85).

2.3.1.3 - ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA (UV)

A Farmacopéia Americana XXII recomenda a espectrofotometria no UV como um dos métodos de identificação do cloridrato de ranitidina na matéria-prima, a 229 e 315 nm.

Entre outros métodos de identificação do fármaco podem ser citados: Ressonância magnética nuclear (protônica e ^{13}C) espectrometria de massas (34), cromatografia líquida de alta eficiência e reação para cloretos (85).

2.3.2 - MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA EM MEDICAMENTOS

2.3.2.1 - ESPECTROFOTOMETRIA UV/VIS

Recomendou-se a determinação do cloridrato de ranitidina na matéria-prima e em comprimidos, através da medida da absorvância a 313 nm, de soluções contendo 10 µg/mL, utilizando-se água destilada como solvente (35).

O fármaco foi determinado em comprimidos, a 314 e 220 nm, utilizando-se tampão fosfato e HCl 0,1 M como solventes, respectivamente (10).

Vários métodos espectrofotométricos no visível foram propostos para a determinação do cloridrato de ranitidina em medicamentos (23, 26, 31, 52, 53, 58, 60, 61, 63, 65, 69).

Os principais reagentes utilizados nestes métodos e os respectivos comprimentos de onda de leitura estão relacionados na tabela 2.1.

Tabela 2.1 - Métodos espectrofotométricos no visível.

Reagentes	Comprimento de onda (nm)	Referência
2,6-dicloroquinona clorimida	520	23
Reinekato de amônio a 2% em água destilada	525	26

Cont.

Tabela 2.1 - (Cont.)

Reagentes	Comprimento de onda (nm)	Referência
Reagente de Van Urk (4-dimetilaminobenzal- deído a 1% em HCl conc. -etanol 1:1)	507	31
Cloridrato de fenilhi- drazina em H ₂ SO ₄ a 80%	440	53
P-dimetilaminocinamal- deído em meio ácido	500	60
Cloridrato de MBTH e cloreto férrico, ambos a 0,20% em HCl 0,1 <u>M</u>	615	61
Rosa Bengala a 1,0% em água destilada	550	65
Reagente de Folin-Cio- calteau e Na ₂ CO ₃ a 20%	765	63
Azul de bromotimol	409 e 415-420	52, 69
Púrpura de bromocresol	415-420	69
Azul de bromofenol	414 e 415-420	58, 69
Verde de bromocresol	417 e 415-420	58, 69

2.3.2.2 - CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE)

A Farmacopéia Americana XXII preconiza a utilização da CLAE para determinação do cloridrato de ranitidina na matéria-prima, em comprimidos e injetáveis. A fase móvel recomendada é composta por metanol-solução de acetato de amônio 0,1 M (85:15), e a coluna é RP₁₈, de 4,6 mm x 20-30 cm. A detecção é feita a 322 nm (85).

Vários métodos de CLAE foram propostos para determinação do cloridrato de ranitidina (em estudos de estabilidade) na matéria-prima (4), em comprimidos (4, 13), em injetáveis (13) e em misturas com fluidos de infusão (25, 40), com fluidos de infusão associados a outros medicamentos (24), com soluções para nutrição parenteral (6) e com soluções para nutrição parenteral total (7, 86, 87).

A tabela 2.2 reúne as colunas, fases móveis e comprimentos de onda de detecção utilizados nestes métodos.

2.3.2.3 - TITULAÇÃO EM MEIO NÃO AQUOSO -

O cloridrato de ranitidina foi determinado na matéria-prima através de titulação em meio não aquoso, utilizando-se ácido acético glacial como solvente, ácido perclórico 0,1 N como titulante e vermelho de quinaldina como indicador. Os teores encontrados, para uma série de determinações, variaram de 98,52% a 100,92% (32).

2.3.2.4 - MÉTODOS ELETROQUÍMICOS

2.3.2.4.1 - POLAROGRAFIA

O comportamento eletroquímico da ranitidina, em dife-

Tabela 2.2 - Métodos de CLAE para a determinação da ranitidina em medicamentos.

Coluna	Fase móvel	Det. UV (nm)	Referência
Spherisorb CN	Acetonitrila - tampão fosfato pH 5,0 (30:70)	228	4
μ -Bondapak C ₁₈	Acetonitrila/fosfato de potássio - ácido pentano sulfônico (8:92) pH 6,1	228	6
HS - 3 C ₁₈	Água - acetonitrila - hidróxido de amônio a 5% em álcool isopro pílico (83:10:7)	228	7
Partisil - ODS 1	Metanol - acetato de amônio 0,1 M (85:15)	322	24, 25
Nova Pak C ₁₈	Fosfato de potássio 0,1 M - ácido pentano sulfônico 5 mM - ace- tonitrila - água (18,4:*:12:*) pH 6,3	228	40
RP C-2	Acetonitrila - tampão fosfato (34:66) pH 6,8	235	86
Spherisorb ODS 1	Tampão fosfato - metanol (24:76) pH 6,0	228	87

*Não consta

rentes suportes eletrolíticos, foi estudado por polarografia (71, 83) e através da redução do grupo nitroetano, o fármaco foi determinado na matéria-prima por polarografia de corrente direta e de pulso diferencial, em tampão acetato pH 5,5. Obteve-se linearidade nas faixas de concentração de $2,4 - 4,9 \times 10^{-4} \text{ M}$ e $2,5 \times 10^{-7} - 2,05 \times 10^{-5} \text{ M}$, respectivamente (15).

Ranitidina foi determinada por polarografia, em comprimidos e injetáveis, utilizando-se tampão de McIlvaine pH 3,0. O limite de detecção foi $7 \times 10^{-4} \text{ mM}$, o coeficiente de correlação foi 0,9996 e a linearidade do método foi obtida na faixa de concentração de 0,1 - 1,0 mM (82).

A polarografia de corrente direta foi utilizada para determinar o cloridrato de ranitidina em comprimidos e injetáveis, utilizando-se tampão acetato pH 5,2 como suporte eletrolítico. Encontrou-se linearidade entre frequência e concentração e coeficiente de correlação igual a 0,9996 (1).

2.3.2.4.2 - POTENCIOMETRIA

Determinou-se cloridrato de ranitidina na matéria-prima através de potenciometria em meio não aquoso, utilizando-se ácido perclórico 0,1 M em ácido acético glacial como titulante e eletrodo de calomelano (4).

Utilizando-se hidróxido de sódio como titulante e água como solvente, o fármaco foi determinado em comprimidos através de potenciometria (3).

Outro método potenciométrico desenvolvido para a determinação do cloridrato de ranitidina em comprimidos utilizou e

letrodos íons-seletivos (com matrizes de PVC e de membrana líquida). Obteve-se linearidade na faixa de concentração de 10^{-2} - 10^{-6} M (pH 2,0 - 7,0) (48).

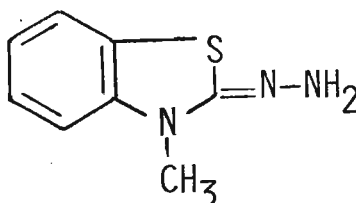
2.3.4 - MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA EM FLUIDOS BIOLÓGICOS

A cromatografia líquida de alta eficiência é o método mais utilizado para a bioanálise de ranitidina. Através desta técnica, o fármaco foi determinado em plasma (8, 30, 37, 38, 39, 46, 49, 57, 59, 67, 68, 70, 80), sangue (68), tecido cerebral (30) e urina (9, 38, 42, 46, 49, 57, 70).

Ranitidina foi determinada em soro e urina através de um método potenciométrico com eletrodos íons-seletivos e tampão acetato pH 4,6. A quantidade mínima detectada no soro foi 3×10^{-7} M (48).

2.4 - UTILIZAÇÃO DO REATIVO MBTH EM ESPECTROFOTOMETRIA NO VISÍVEL

O MBTH (II), quimicamente a hidrazona da 3-metil-2-benzotiazolinona, foi desenvolvido em 1910, por BESTHORN(5).



(II)

A capacidade de formar compostos coloridos com diferentes grupamentos químicos possibilita vasta aplicação do MBTH em análise espectrofotométrica no visível.

O MBTH forma compostos coloridos com aldeídos (78), (55), várias aminas (54, 79) e compostos fenólicos (84). Essas reações geralmente se processam em presença de um oxidante específico e condições definidas de pH, o que confere características de seletividade à determinação de substâncias contendo esses grupamentos químicos, já que através de mecanismos diferentes, são formados produtos coloridos diferentes, com consequentes leituras espectrofotométricas a comprimentos de onda distintos.

A aplicação de métodos espectrofotométricos no visível com MBTH na análise de medicamentos tem demonstrado ser uma boa alternativa, principalmente nos casos em que não existam recursos para o desenvolvimento de metodologias mais sofisticadas.

Entre os oxidantes utilizados na análise de fármacos com MBTH podem ser citados o cloreto férrico (22, 72, 73, 74,

77), o sulfato férrico amoniacal (19, 20, 21), o bicromato de potássio (72), o metaperiodato de sódio (73, 76), a cloramina T (72) e o sulfato cérico amoniacal (18, 64, 72, 73, 74, 75).

3 - PROPOSIÇÃO

O cloridrato de ranitidina vem sendo bastante utilizado e desperta grande interesse devido, principalmente, à sua potente ação no tratamento de úlceras pépticas.

Medicamentos contendo cloridrato de ranitidina são comercializados no Brasil e até o momento o fármaco não foi inscrito na Farmacopéia Brasileira. A metodologia oficial da Farmacopéia Americana para o seu doseamento é a cromatografia líquida de alta eficiência; a aplicação desta técnica analítica no Brasil ainda é bastante dificultada, devido aos altos custos envolvidos na obtenção e manutenção dos equipamentos e à necessidade de pessoal qualificado.

O objetivo deste trabalho foi padronizar métodos de análise precisos, sensíveis, de fácil execução e de custos mais baixos que aqueles envolvidos na metodologia proposta pela Farmacopéia Americana. Assim, dois métodos espectrofotométricos (um no visível e outro no ultravioleta) foram propostos e aplicados na determinação do cloridrato de ranitidina em medicamentos comercializados no Brasil.

O método espectrofotométrico no visível foi baseado na reação entre o fármaco e o reativo MBTH, em presença de cloreto férrico, proposta por RAO e equipe (61).

O método espectrofotométrico no ultravioleta foi padronizado a 313 nm, utilizando-se água destilada como solvente.

4 - PLANEJAMENTO DA PESQUISA

- 4.1 - Revisão bibliográfica sobre o cloridrato de ranitidina.
- 4.1 - Levantamento das preparações farmacêuticas contendo cloridrato de ranitidina comercializadas no Brasil.
- 4.2 - Levantamento dos métodos de análise existentes na literatura para determinação do cloridrato de ranitidina em medicamentos.
- 4.3 - Seleção de métodos analíticos para determinação do cloridrato de ranitidina em medicamentos.
- 4.4 - Padronização dos métodos analíticos selecionados.
- 4.5 - Aplicação dos métodos padronizados na determinação do cloridrato de ranitidina em amostras comerciais e simuladas, após estudo de interferência a partir dos outros componentes adicionados às formulações.
- 4.6 - Realização de testes de recuperação em amostras comerciais e simuladas, a fim de comprovar a exatidão dos métodos propostos.
- 4.7 - Estudo estatístico dos resultados obtidos, a fim de avaliar a reprodutibilidade dos métodos utilizados e de compará-los quanto à exatidão e precisão.

5 - PARTE EXPERIMENTAL

5.1 - MATERIAL

5.1.1 - REAGENTES E SOLUÇÕES

- . Cloridrato da hidrazona da 3-metil-2-benzotiazolinona (MBTH) - Fluka
- . Cloreto férrico hexahidratado - Merck
- . Soluções de ácido clorídrico 0,01M, 0,1M e 1,0M

Foram utilizados reagentes de grau de pureza analítico.

5.1.2 - FÁRMACO UTILIZADO COMO SUBSTÂNCIA DE REFERÊNCIA

- . Cloridrato de ranitidina - Chemotecnica, utilizado sem ulterior purificação.

5.1.3 - AMOSTRAS

Amostra 1: (amostra comercial)

Comprimidos contendo 150,0mg de cloridrato de ranitidina.

Amostra 2: (amostra comercial)

Solução injetável contendo 50,0mg de cloridrato de ranitidina/5,0mL, pH 6,8.

Amostra 3: (amostra comercial)

Solução injetável contendo 56,0mg de cloridrato de ranitidina

tidina/2,0ml, pH 6,8.

Amostra 4: (amostra comercial)

Comprimidos contendo 167,4mg de cloridrato de ranitidina.

Amostra 5: (amostra simulada)

Comprimidos

Cloridrato de ranitidina	150,00mg
Lactose	87,00mg
Celulose microcristalina	45,00mg
Amido seco.....	15,00mg
Estearato de magnésio	3,00mg
	Total = 300,00mg

Amostra 6: (amostra simulada)

Solução injetável, pH 6,8

Cloridrato de ranitidina	50,00mg
Álcool benzílico	50,00mg
Solução fisiológica q.s.p.	5,00ml

Amostra 7: (amostra simulada)

Solução injetável, pH 6,8

Cloridrato de ranitidina	56,00mg
Fenol	10,00mg
Solução fisiológica q.s.p.	2,00ml

Todas as substâncias empregadas na preparação das amostras simuladas foram de grau farmacêutico.

5.1.4 - EQUIPAMENTOS

Além dos equipamentos normalmente utilizados em laboratórios de controle de qualidade de medicamentos, foram empregados os seguintes:

- . Espectrofotômetro BECKMAN, modelo DU-70, munido de impressora, com cubetas de 1,0cm.
- . Medidor de pH DIGIMED, modelo TE-901.

5.2 - MÉTODOS

5.2.1.- ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA

5.2.1.1 - PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO

5.2.1.1.A - CONSTRUÇÃO DA CURVA DE RINGBOM

Foram pesados exatamente 100,0 mg de cloridrato de ranitidina, os quais foram transferidos para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Transferiu-se uma alíquota de 50,0 mL para balão volumétrico de 500 mL e completou-se o volume com água destilada. Desta solução, foram transferidas 25 alíquotas, cujos volumes variaram de 1,0 a 25,0 mL, para balões volumétricos de 100 mL, completando-se os volumes com água destilada. Foram obtidas, assim, soluções com concentrações variando entre 1,0 e 25,0 μg de cloridrato de ranitidina/mL.

As leituras de absorvância destas soluções foram efetuadas contra branco de água destilada, a 313 nm.

Através dos resultados obtidos, construiu-se a curva de Ringbon, determinando-se a faixa de concentração de cloridrato de ranitidina na qual o método espectrofotométrico no ultravioleta obedece à lei de Beer.

5.2.1.1.B - CONSTRUÇÃO DA RETA DE CALIBRAÇÃO

Determinada a faixa de concentração na qual o método obedece à lei de Beer, construiu-se a reta de calibração com os resultados obtidos na leitura das absorvâncias das soluções com concentrações iguais a 5,0, 7,0, 8,0, 10,0, 11,0, 12,0, 14,0, 15,0, 16,0, e 18,0 μg de cloridrato de ranitidi

na/mL.

5.2.1.2 - APLICAÇÃO DO MÉTODO PADRONIZADO A AMOSTRAS COMERCIAIS E SIMULADAS

5.2.1.2.1 - PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES

Com o objetivo de verificar a existência de interferentes no método, algumas preparações foram simuladas e seus placebos foram analisados.

5.2.1.2.1.A - Preparo do padrão P

Foram pesados exatamente 150,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidos para balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Desta solução foi transferida uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 250 mL e completou-se o volume com água destilada. A solução padrão P continha 12,0 µg de cloridrato de ranitidina/mL.

5.2.1.2.1.B - Preparo do padrão P₁

Foram pesados exatamente 100,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidos para balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Desta solução foi transferida uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 200 mL, completando-se o volume com água destilada. A solução padrão P₁ continha 10,0 µg de cloridrato de ranitidina/mL.

5.2.1.2.1.C - Preparo do padrão P₂

Foram pesados exatamente 56,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidos para balão volumétrico de 200 mL. Adicionou-se q.s. de água para dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Desta solução, transferiu-se uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água destilada. A solução padrão P₂ continha 14,0 µg de cloridrato de ranitidina/mL.

5.2.1.2.1.D - Preparo das amostras 1, 4 e 5

Destas amostras foram pesadas quantidades que continham, teoricamente, 150,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidas para balões volumétricos de 250 mL. Foram adicionados 100 mL de água destilada, agitando-se durante 10 minutos. Os volumes foram completados com o mesmo solvente, filtrando-se em seguida. Rejeitados os primeiros 10 mL dos filtrados, foram transferidas alíquotas de 5,0 mL dos mesmos para balões volumétricos de 250 mL, completando-se os volumes com água destilada.

5.2.1.2.1.E - Preparo do placebo da amostra 5

Foi pesada do placebo uma quantidade equivalente ao peso do excipiente contido na amostra 5, utilizada no preparo da solução do item anterior, seguindo-se o mesmo procedimento da aquele item.

5.2.1.2.1.F - Preparo das amostras 2 e 6, e do placebo da amostra 6

Foram transferidos 2,0 mL das amostras e do placebo para balões volumétricos de 50 mL, completando-se os volumes com água destilada. Destas soluções foram transferidas alíquotas de 5,0 mL para balões volumétricos de 200 mL, completando-se os

volumes com o mesmo solvente.

5.2.1.2.1.G - Preparo das amostras 3 e 7, e do placebo da amostra
7

Transferiu-se 1,0 mL das amostras e do placebo para balões volumétricos de 100 mL, completando-se os volumes com água destilada. Destas soluções, foram transferidas alíquotas de 5,0 mL para balões volumétricos de 100 mL, completando-se os volumes com o mesmo solvente.

Foram traçados os espectros de todas as soluções, de 400 a 200 nm, contra branco de água destilada.

5.2.1.2.2 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORIDRATO DE RANITIDINA NAS
AMOSTRAS COMERCIAIS (1, 2, 3 e 4) E SIMULADAS (5, 6 e
7)

5.2.1.2.2.A - Preparo do padrão

Seguiu-se o mesmo procedimento descrito no item 5.2.1.2.1.A, obtendo-se uma solução com 12,0 µg de cloridrato de ranitidina/mL. Foram efetuadas as leituras de absorbância de três soluções de cloridrato de ranitidina padrão, a 313 nm, contra branco de água destilada.

5.2.1.2.2.B - Preparo das amostras

As amostras 1, 4 e 5, 2 e 6, e 3 e 7 foram preparadas conforme os procedimentos descritos nos itens 5.2.1.2.1.D, 5.2.1.2.1.F e 5.2.1.2.1.G, respectivamente. Foram efetuadas as leituras de absorbância, a 313 nm, fazendo-se 10 determinações para cada amostra.

5.2.1.3 - TESTE DE RECUPERAÇÃO

O teste de recuperação é efetuado para comprovar a exatidão do método (85). Consiste em adicionar à amostra quantida - des conhecidas da substância padrão, empregando-se em seguida, o método proposto de análise.

5.2.1.3.A - Preparo do padrão

Foram pesados exatamente 100,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidos para balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Esta solução continha 400,0 µg de cloridrato de ranitidina/mL.

5.2.1.3.B - Preparo das amostras 1, 4 e 5

Destas amostras foram pesadas quantidades que conti- nham, teoricamente, 100,0 mg de cloridrato de ranitidina e trans feridas para balões volumétricos de 250 mL. Foram adicionados 100 mL de água destilada, agitando-se durante dez minutos. Os vo lumes foram completados com o mesmo solvente e após filtração, os primeiros 10 mL foram rejeitados.

5.2.1.3.C - Preparo das amostras 2 e 6

Foram transferidos 2,0 mL destas amostras para ba - lões volumétricos de 50 mL, completando-se os volumes com água destilada.

5.2.1.3.D - Preparo das amostras 3 e 7

Foram transferidos 2,0 mL destas amostras para ba-

lões volumétricos de 200 mL, completando-se os volumes com água destilada.

Para o teste foram transferidas alíquotas das amostras e do padrão, segundo o esquema abaixo, para balões volumétricos de 200 mL (amostras 3 e 7) e de 250 mL (amostras 1, 2, 4, 5 e 6).

Esquema para realização do teste de recuperação:

Amostra (mL)	Padrão (mL)
-	5,0
5,0	1,0
5,0	2,0
5,0	5,0
5,0	-

Os volumes foram completados com água destilada e as leituras de absorvância foram efetuadas a 313 nm, contra branco do mesmo solvente.

A porcentagem de recuperação (%R) foi calculada pela expressão:

$$\%R = (C_A - C_{NA}) / C_P \times 100$$

onde: C_A = Concentração de cloridrato de ranitidina encontrada na amostra adicionada de padrão.

C_{NA} = Concentração de cloridrato de ranitidina encontrada na amostra não adicionada de padrão.

C_P = Concentração do padrão.

5.2.2 - ESPECTROFOTOMETRIA NO VISÍVEL

5.2.2.1 - PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO

5.2.2.1.A - ESTUDO DOS PRINCIPAIS FATORES QUE INFLUENCIAM A REAÇÃO

5.2.2.1.A.1 - DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO ÓTIMA DE MBTH E CLORETO FÉRRICO

Preparo do padrão

Foram pesados exatamente 150,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidos para balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Desta solução foi transferida uma alíquota de 10,0 mL para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com HCl 0,1 M. Esta solução continha 60,0 µg de cloridrato de ranitidina/mL.

Preparo das soluções de MBTH

Foram pesados exatamente 50,0, 100,0, 150,0, 200,0, 250,0, 300,0, 350,0, 400,0, 450,0 e 500,0 mg de MBTH e transferidos para balões volumétricos de 100 mL. A cada balão adicionou-se q.s. de HCl 0,1 M para dissolução, completando-se os volumes com o mesmo solvente. As soluções obtidas tinham concentrações de 0,05, 0,10, 0,15, 0,20, 0,25, 0,30, 0,35, 0,40, 0,45 e 0,50%, respectivamente.

Preparo das soluções de cloreto férrico

Foram pesados exatamente 200,0, 300,0, 400,0,

500,0 e 1000,0 mg de cloreto férrico, e transferidos para balões volumétricos de 100 mL. A cada balão adicionou-se q.s. de HCl 0,1 M para dissolução, completando-se os volumes com o mesmo solvente. As soluções obtidas tinham concentrações de 0,20, 0,30, 0,40, 0,50 e 1,00%, respectivamente.

Procedimento

Para a realização dos testes foram transferidas para 35 balões volumétricos de 50 mL, alíquotas de 5,0 mL da solução padrão, 2,0 mL de solução de MBTH e 5,0 mL de solução de cloreto férrico, conforme o esquema:

Conc. MBTH (%)	0,05	0,10	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	0,45	0,50
Conc. FeCl ₃ (%)										
0,20	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
0,30		x		x		x	x	x		x
0,40		x	x	x	x	x	x	x	x	x
0,50		x		x		x		x		x
1,00		x		x		x		x		x

Após homogeneização e repouso de trinta minutos, foram medidas as absorbâncias a 615 nm, contra os respectivos brancos

(trinta e cinco), que foram preparados sob as mesmas condições descritas, porém, substituindo-se a solução padrão por 5,0 mL de HCl 0,1 M.

Com os resultados obtidos, foram construídas as curvas, através das quais foram determinadas as concentrações de MBTH e cloreto férrico que forneceram maior estabilidade à reação.

5.2.2.1.A.2 - DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA SOLUÇÃO DE HCl UTILIZADA COMO SOLVENTE

Para esta determinação foram efetuadas reações a partir de soluções de cloridrato de ranitidina, MBTH e cloreto férrico, preparadas com os seguintes solventes:

- Água destilada;
- HCl 0,01 M;
- HCl 0,1 M;
- HCl 1,0 M.

Preparo dos padrões

Foram pesados exatamente 100,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidos para balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se q.s de água destilada para dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Desta solução, foram transferidas alíquotas de 10,0 mL para balões volumétricos de 100 mL. Completou-se o volume do primeiro balão com água destilada (padrão 1), o do segundo com HCl 0,01 M (padrão 2), o do terceiro com HCl 0,1 M (padrão 3) e o quarto com HCl 1,0 M (padrão 4). Estas soluções continham 40,0 μ g de cloridrato de ranitidina/mL.

Preparo das soluções de MBTH

Foram efetuadas quatro pesagens de, exatamente, 350,0 mg de MBTH, que foram transferidos para balões volumétricos de 100 mL. Ao primeiro balão adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução, completando-se o volume com o mesmo solvente (MBTH 1). Seguindo-se o mesmo procedimento, foram preparadas as soluções de MBTH 2, 3 e 4, utilizando-se HCl 0,01 M, 0,1 M e 1,0 M, respectivamente, como solventes.

Preparo das soluções de cloreto férrico

Foram efetuadas quatro pesagens de, exatamente, 400,0 mg de cloreto férrico, que foram transferidos para balões volumétricos de 100 mL. Ao primeiro balão adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução, completando-se o volume com o mesmo solvente (FeCl_3 1). Seguindo-se o mesmo procedimento, foram preparadas as soluções de FeCl_3 2, 3 e 4, utilizando-se HCl 0,01 M, 0,1 M e 1,0 M, respectivamente, como solventes.

Procedimento

Foram transferidas para doze balões volumétricos de 50 mL, alíquotas de 5,0, 2,0 e 5,0 mL das soluções (padrão, MBTH e cloreto férrico, respectivamente) preparadas com o mesmo solvente (padrão 1, MBTH 1 e FeCl_3 1, por exemplo). Após homogeneização e repouso de trinta minutos, os volumes foram completados com água destilada e as absorvâncias foram medidas a 615 nm, contra os respectivos brancos, preparados sob as mesmas condições descritas, porém, substituindo-se o padrão por 5,0 mL de água destilada, HCl 0,01 M, 0,1 M e 1,0 M, conforme o caso.

Com os resultados obtidos, verificou-se a influência

da concentração de HCl sobre o desenvolvimento da reação.

5.2.2.1.A.3 - DETERMINAÇÃO DO TEMPO NECESSÁRIO PARA A ESTABILIZAÇÃO DA REAÇÃO

Preparo do padrão

Foram pesados exatamente 100,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidos para balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução, completando-se o volume com o mesmo solvente. Foi transferida uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 200 mL, completando-se o volume com HCl 0,1 M. Esta solução continha 10,0 µg de cloridrato de ranitidina/mL.

Preparo da solução de MBTH a 0,35%

Foram pesados exatamente 350,0 mg de MBTH e transferidos para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se q.s. de HCl 0,1 M para dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Esta solução tinha concentração de 0,35% e este foi o procedimento adotado para o preparo das soluções de MBTH utilizadas no restante do trabalho.

Preparo da solução de cloreto férrico a 0,40%

Foram pesados exatamente 400,0 mg de cloreto férrico e transferidos para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se q.s. de HCl 0,1 M para dissolução, completando-se o volume com o mesmo solvente. Esta solução tinha concentração de 0,40 % e este foi o procedimento adotado para o preparo das soluções de cloreto férrico utilizadas no restante do trabalho.

Procedimento

Foram transferidos para um tubo de ensaio 5,0 mL de solução padrão, 2,0 mL de solução de MBTH a 0,35% e 5,0 mL de solução de cloreto férrico a 0,40%. Após homogeneização, transferiu-se diretamente para a cubeta do espectrofotômetro, efetuando-se as medidas de absorvância de zero a quarenta e cinco minutos, depois de calibrar o aparelho com o branco da reação.

5.2.2.1.A.4 - VERIFICAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE ÁGUA NO DESENVOLVIMENTO DA REAÇÃO

Preparo do padrão

Foram pesados exatamente 100,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidos para balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução, completando-se o volume com o mesmo solvente. Transferiu-se uma alíquota de 10,0 mL para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com HCl 0,1 M. Esta solução continha 40,0 µg de cloridrato de ranitidina/mL.

Procedimento

Foram transferidos para dois balões volumétricos de 50 mL, 5,0 mL de solução padrão, 2,0 mL de solução de MBTH a 0,35% e 5,0 mL de solução de cloreto férrico a 0,40%. Completou-se o volume do primeiro balão com água destilada logo após a adição dos reagentes. O volume do segundo balão foi completado trinta minutos após a adição dos reagentes. As medidas de absorvância foram efetuadas depois que o volume do segundo balão foi completado, a 615 nm, contra os respectivos brancos.

5.2.2.1.A.5 - DETERMINAÇÃO DO TEMPO DE ESTABILIDADE DA REAÇÃO

Preparo do padrão

Seguiu-se o mesmo procedimento descrito para o preparo do padrão do item 5.2.2.1.A.4.

Procedimento

Foram transferidos para balão volumétrico de 50 mL , 5,0 mL da solução padrão, 2,0 mL da solução de MBTH a 0,35% e 5,0 mL da solução de cloreto férrico a 0,40%. Após homogeneização e trinta minutos de repouso, o volume foi completado com água destilada. As leituras de absorvância foram efetuadas a 615 nm, durante cento e vinte minutos, após calibração do aparelho com o branco da reação.

5.2.2.1.A' - DETERMINAÇÃO DA RELAÇÃO ESTEQUIOMÉTRICA ENTRE O CLORIDRATO DE RANITIDINA E O MBTH

O estudo da relação estequiométrica entre o cloridrato de ranitidina e o MBTH baseou-se no método da "variação contínua", de JOB (36). Este método foi aplicado na determinação da relação estequiométrica entre o MBTH e outros fármacos em presença do íon férrico (20, 21).

Para a determinação preparam-se soluções das espécies em estudo com a mesma concentração molar. Em seguida, são variadas as proporções das soluções, aplicando-se o método de análise. Para métodos espectrofotométricos, a relação estequiométrica é obtida pela proporção (entre os volumes das soluções) de maior absorvância.

O teste foi realizado a partir das soluções de clo

ridrato de ranitidina e de MBTH, ambas com concentração de $7,27 \times 10^{-4}$ M, e da solução de cloreto férrico a 0,40%.

Procedimento

Foram transferidas para 28 balões volumétricos de 50 mL, alíquotas complementares de 0,0 a 10,0 mL de solução de clo_ridrato de ranitidina e MBTH, conforme o esquema do quadro 5.1.

A cada balão foram adicionados 5,0 mL de solução de cloreto férrico a 0,40% e após homogeneização e repouso de trinta minutos, completaram-se os volumes com água destilada. As absorvâncias foram medidas a 615 nm, contra os respectivos brancos, preparados da mesma maneira, porém, substituindo-se a solução padrão por HCl 0,1 M.

Com os resultados obtidos, construiu-se a curva através da qual foi determinada a proporção de cloridrato de ranitidina e MBTH que forneceu a maior leitura de absorvância.

5.2.2.1.B - DETERMINAÇÃO DO ESPECTRO DE ABSORÇÃO DA REAÇÃO

Para esta determinação utilizou-se a solução padrão contendo 40,0 µg de cloridrato de ranitidina/mL, preparada como no item 5.2.2.1.A.4.

Procedimento

Foram transferidos para balão volumétrico de 50 mL, 5,0 mL de solução padrão, 2,0 mL de solução de MBTH a 0,35% e 5,0 mL de solução de cloreto férrico a 0,40%. Após homogeneização e repouso de trinta minutos, completou-se o volume com água destilada e traçou-se o espectro de absorção, de 700 a 400 nm, contra branco preparado sob as mesmas condições, porém, substitu

Quadro 5.1 - Esquema da variação dos volumes das soluções de cloridrato de ranitidina e MBTH para a determinação da relação estequiométrica.

Balão nº	Solução de cloridrato de ranitidina (mL)	solução de MBTH (mL)
1	-	10,0
2	0,1	9,9
3	0,2	9,8
4	0,3	9,7
5	0,4	9,6
6	0,5	9,5
7	0,7	9,3
8	1,0	9,0
9	1,1	8,9
10	1,2	8,8
11	1,4	8,6
12	1,5	8,5
13	2,0	8,0
14	2,2	7,8
15	2,3	7,7
16	2,5	7,5
17	2,7	7,3
18	2,8	7,2
19	3,0	7,0
20	3,3	6,7
21	3,5	6,5
22	4,0	6,0
23	5,0	5,0
24	6,0	4,0
25	7,0	3,0
26	8,0	2,0
27	9,0	1,0
28	10,0	-

indo-se a solução padrão por HCl 0,1 M.

5.2.2.1.C - CONSTRUÇÃO DA CURVA DE RINGBOM

Preparo do padrão

Foram pesados exatamente 300,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidos para balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Desta solução, foi transferida uma alíquota de 10,0 mL para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com HCl 0,1 M. Esta solução continha 120 µg de cloridrato de ranitidina/mL.

Procedimento

Foram transferidas para balões volumétricos de 50 mL alíquotas da solução padrão, conforme o esquema do quadro 5.2.

A cada balão foram adicionados 2,0 mL de solução de MBTH a 0,35% e 5,0 mL de solução de cloreto férrico a 0,40%. Após homogeneização e repouso de trinta minutos, completou-se o volume com água destilada. As soluções obtidas tinham concentrações variando de 0,48 a 10,08 µg de cloridrato de ranitidina/mL. As leituras de absorbância foram efetuadas a 615 nm, contra branco preparado sob as mesmas condições, substituindo-se a solução padrão por HCl 0,1 M.

Com os resultados obtidos construiu-se a curva de Ringbon.

Quadro 5.2 - Esquema de preparação das soluções de cloridrato de ranitidina para construção da curva de Ringbom.

Balão nº	Volume de solução padrão (mL)	Vol. de HCl 0,1 M (mL)
1	0,2	4,8
2	0,4	4,6
3	0,6	4,4
4	0,8	4,2
5	1,0	4,0
6	1,2	3,8
7	1,4	3,6
8	1,6	3,4
9	1,8	3,2
10	2,0	3,0
11	2,2	2,8
12	2,4	2,6
13	2,6	2,4
14	2,8	2,2
15	3,0	2,0
16	3,2	1,8
17	3,4	1,6
18	3,6	1,4
19	3,8	1,2
20	4,0	1,0
21	4,2	0,8

5.2.2.1.D - CONSTRUÇÃO DA RETA DE CALIBRAÇÃO

Com os dados obtidos na construção da curva de Ringbon, construiu-se a reta de calibração do método, utilizando-se os resultados das medidas de absorvância das soluções com concentrações iguais a 1,44, 1,92, 2,40, 2,88, 3,36, 3,84, 4,32, 4,80, 5,28 e 5,76 μg de cloridrato de ranitidina/mL.

5.2.2.2 - APLICAÇÃO DO MÉTODO PADRONIZADO A AMOSTRAS COMERCIAIS E SIMULADAS

5.2.2.2.1 - PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES

5.2.2.2.1.A - Preparo do padrão

Seguiu-se o procedimento descrito no item 5.2.2.1.

A.4.

5.2.2.2.1.B - Preparo das amostras 1, 4 e 5

Foi pesada de cada amostra uma quantidade que continha, teoricamente, 100,0 mg de cloridrato de ranitidina, transferindo-se para balão volumétrico de 250 mL. Foram adicionados 100 mL de água destilada, agitando-se durante dez minutos. Completou-se o volume com o mesmo solvente e filtrou-se, desprezando-se os primeiros 10,0 mL do filtrado. Transferiu-se uma alíquota de 10,0 mL para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com HCl 0,1 M.

5.2.2.2.1.C - Preparo do placebo da amostra 5

Foi pesada uma quantidade do placebo, equivalente ao peso do excipiente contido na amostra 5, utilizada no preparo

da solução do ítem anterior, seguindo-se aquele procedimento.

5.2.2.2.1.D - Preparo das amostras 2 e 6, e do placebo da amostra 6

Foram transferidos 2,0 mL de cada amostra e do placebo para balões volumétricos de 100 mL, completando-se os volumes com água destilada. Destas soluções foram transferidas alíquotas de 10,0 mL para balões volumétricos de 50 mL, completando-se os volumes com HCl 0,1 M.

5.2.2.2.1.E - Preparo das amostras 3 e 7, e do placebo da amostra 7

Foram transferidos 2,0 mL de cada amostra e do placebo para balões volumétricos de 250 mL, completando-se os volumes com água destilada. Destas soluções, foram transferidas alíquotas de 10,0 mL para balões volumétricos de 50 mL, completando-se os volumes com HCl 0,1 M.

5.2.2.2.1.F - Procedimento

Para a reação seguiu-se o esquema abaixo:

	Sol. padrão (mL)	Sol. amostra (mL)	HCl 0,1 <u>M</u> (mL)	MBTH a 0,35% (mL)	FeCl ₃ a 0,40% (mL)
Balão padrão	5,0	-	-	2,0	5,0
Balão amostra	-	5,0	-	2,0	5,0
Balão branco	-	-	5,0	2,0	5,0

Após homogeneização e repouso de trinta minutos, os volumes foram completados com água destilada e os espectros foram traçados, de 700 a 400 nm, contra o branco da reação.

5.2.2.2.2 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORIDRATO DE RANITIDINA NAS AMOSTRAS COMERCIAIS (1, 2, 3 e 4) E SIMULADAS (5, 6 e 7)

5.2.2.2.2.A - Preparo do padrão

Seguiu-se o procedimento descrito no item 5.2.2.1.

A.4.

5.2.2.2.2.B - Preparo das amostras 1, 4 e 5

Seguiu-se o procedimento descrito no item 5.2.2.2.

1.B.

5.2.2.2.2.C - Preparo das amostras 2 e 6

Foram transferidos 2,0 mL de cada amostra para balão volumétrico de 25 mL, completando-se o volume com água destilada. Desta solução, foram transferidos 5,0 mL para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com HCl 0,1 M.

5.2.2.2.2.D - Preparo das amostras 3 e 7

Foram transferidos 2,0 mL de cada amostra para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com água destilada. Desta solução, transferiu-se uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume com HCl 0,1 M.

5.2.2.2.2.E - Procedimento

Para a reação seguiu-se o esquema mostrado no ítem 5.2.2.2.1.F. Após homogeneização e repouso de trinta minutos, os volumes foram completados com água destilada e as medidas de absorvância foram efetuadas a 615 nm, contra o branco da reação. Foram efetuadas três determinações para o padrão e dez para cada amostra.

5.2.2.3 - TESTE DE RECUPERAÇÃO

5.2.2.3.A - Preparo do padrão

Foram pesados exatamente 100,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidos para balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se q.s. de água destilada para dissolução e completou-se o volume com o mesmo solvente. Esta solução continha 400,0 µg de cloridrato de ranitidina/mL.

5.2.2.3.B - Preparo das amostras 1, 4 e 5

Foram pesadas destas amostras quantidades que continham, teoricamente, 150,0 mg de cloridrato de ranitidina e transferidas para balões volumétricos de 100 mL. Foram adicionados 30 mL de água destilada, agitando-se durante dez minutos. Os volumes foram completados com o mesmo solvente, filtrando-se, em seguida. Após rejeição dos primeiros 10 mL dos filtrados, foram transferidas alíquotas de 10,0 mL para balões volumétricos de 50 mL, completando-se os volumes com água destilada.

5.2.2.3.C - Preparo das amostras 2 e 6

Foram transferidos 2,0 mL destas amostras para ba

lões volumétricos de 50 mL, completando-se os volumes com água destilada. Destas soluções, foram transferidas alíquotas de 20,0 mL para balões volumétricos de 50 mL, completando-se os volumes com o mesmo solvente.

5.2.2.3.D - Preparo das amostras 3 e 7

Foram transferidos 5,0 mL destas amostras para balões volumétricos de 100 mL, completando-se os volumes com água destilada. Destas soluções, foram transferidas alíquotas de 10,0 mL para balões volumétricos de 50 mL, completando-se os volumes com o mesmo solvente.

Para os testes foram transferidas alíquotas das amostras e do padrão para balões volumétricos de 50 mL (amostras 2 e 6) e de 100 mL (amostras 1, 3, 4, 5 e 7), segundo os esquemas abaixo:

Amostras 2 e 6 (mL)	Padrão (mL)
-	5,0
5,0	1,0
5,0	2,0
5,0	5,0
5,0	-

Amostras 1, 3, 4, 5 e 7 (mL)	Padrão (mL)
-	5,0
10,0	1,0
10,0	2,0
10,0	5,0
10,0	-

Os volumes foram completados com HCl 0,1 M.

5.2.2.3.E - Procedimento

Para a reação seguiu-se o esquema mostrado no item 5.2.2.2.1.F. Após homogeneização e repouso de trinta minutos, os volumes foram completados com água destilada e as medidas de absorbância foram efetuadas a 615 nm, contra o branco da reação. As porcentagens de recuperação (%R) foram calculadas pela expressão do item 5.2.1.3.

6 - RESULTADOS

6.1 - ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA

O espectro de absorção do cloridrato de ranitidina no ultravioleta, em água destilada, encontra-se na figura 6.1.

6.1.1 - PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO

A curva de Ringbom construída a 313nm, em água destilada, encontra-se na figura 6.2.

Os valores experimentais de absorbância para construção da reta de calibração são encontrados na tabela 6.1.

Os resultados do tratamento estatístico sobre os valores experimentais utilizados para construção da reta de calibração são encontrados na tabela 6.2, e foram baseados no método dos mínimos quadrados (análise estatística, pg.74).

A reta de calibração obtida é mostrada na figura 6.3.

6.1.2 - APLICAÇÃO DO MÉTODO PADRONIZADO A AMOSTRAS COMERCIAIS E SIMULADAS

6.1.2.1 - PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES

A figura 6.4 apresenta a comparação entre os espectros de absorção do padrão P, das amostras 1 e 5, e do placebo da amostra 5.

A figura 6.5 apresenta a comparação entre os espectros de absorção do padrão P e da amostra 4.

A figura 6.6 apresenta a comparação entre os espectros de absorção da amostra 2 e da amostra 6.

A figura 6.7 apresenta a comparação entre os espectros de absorção da amostra 2; do padrão P_1 e do placebo da amostra 6.

A figura 6.8 apresenta a comparação entre os espectros de absorção da amostra 3 e da amostra 7.

A figura 6.9 apresenta a comparação entre os espectros de absorção da amostra 3, do padrão P_2 , da amostra 7 e do placebo da amostra 7.

6.1.2.2 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORIDRATO DE RANITIDINA NAS AMOSTRAS COMERCIAIS (1, 2, 3 e 4) E SIMULADAS (5, 6 e 7)

A tabela 6.3 apresenta os resultados obtidos da análise das amostras comerciais e simuladas.

O tratamento estatístico dos valores experimentais obtidos encontram-se na tabela 6.4 (Análise estatística, pg 78).

6.1.3 - TESTE DE RECUPERAÇÃO

Os resultados do teste de recuperação efetuado nas amostras comerciais e simuladas são encontrados na tabela 6.5.

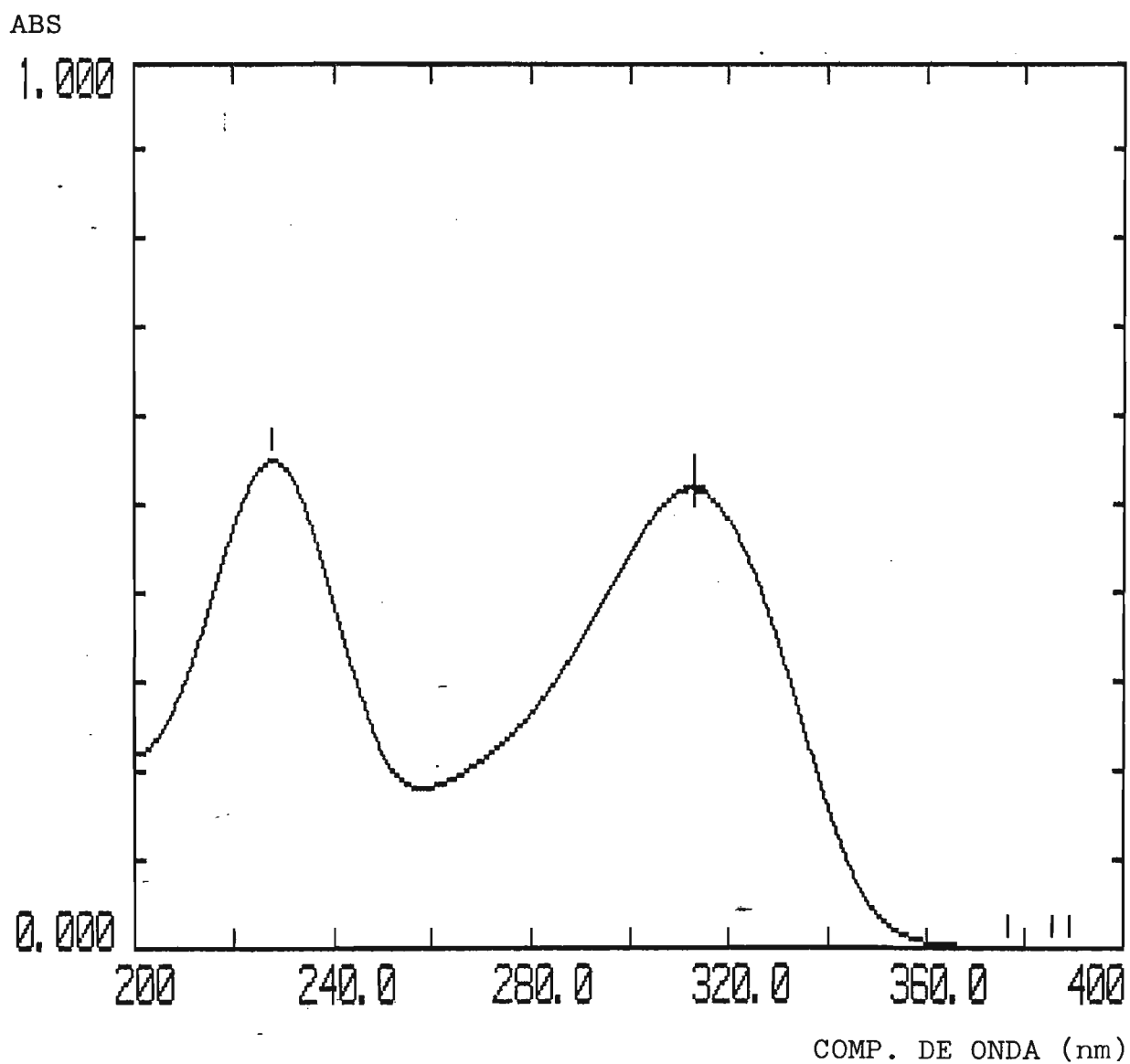


Figura 6.1 - Espectro de absorção no ultravioleta do cloridrato de ranitidina em água destilada (12,0 $\mu\text{g/mL}$).

100-T

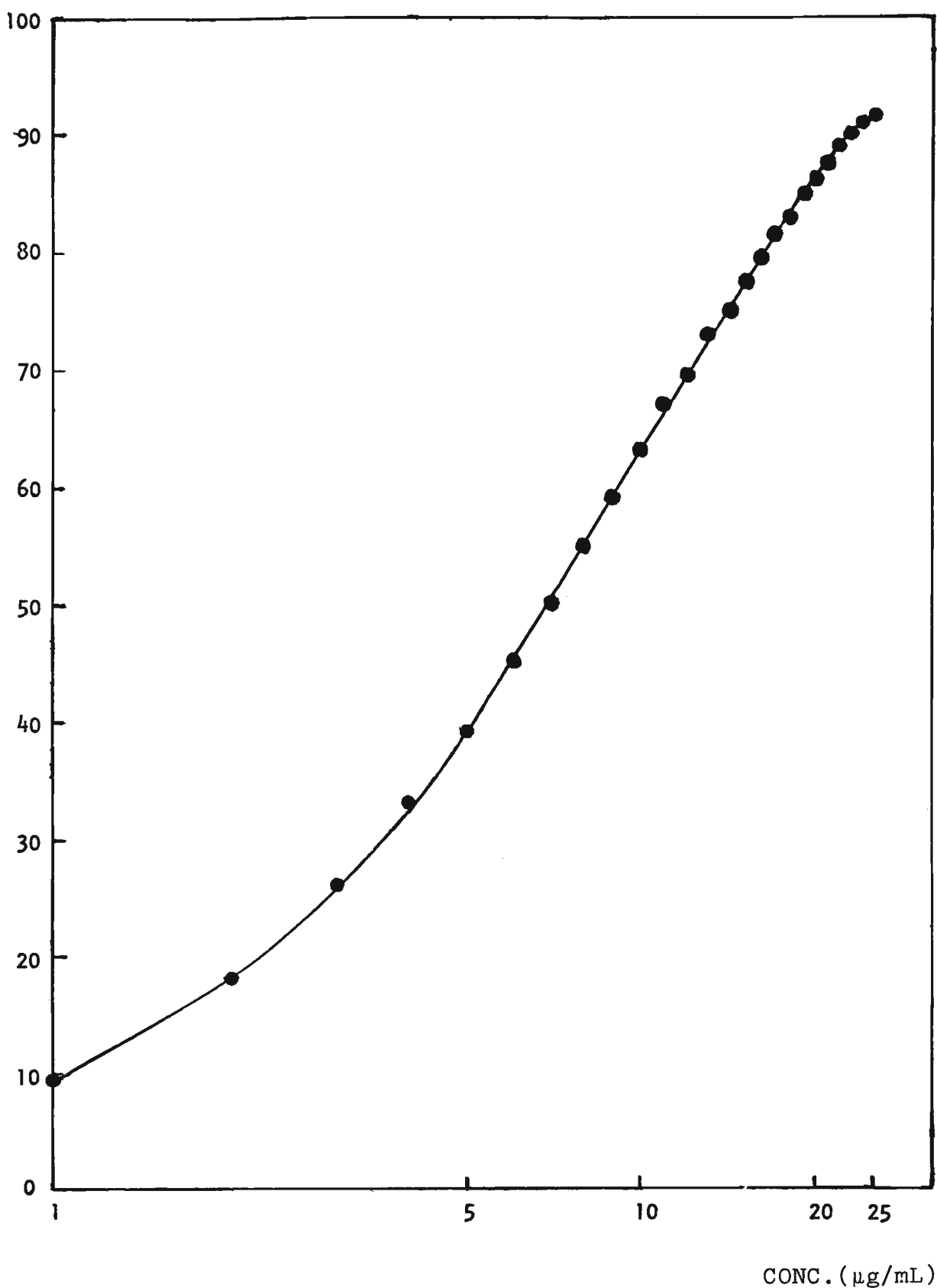


Figura 6.2 - Curva de Rinbgom obtida pelo método espectrofotométrico no ultravioleta para o cloridrato de ranitidina.

Concentração das soluções: 1,0 a 25,0 $\mu\text{g/mL}$.

Leituras efetuadas a 313nm.

Tabela 6.1 - Resultados experimentais obtidos na determinação da reta de calibração do método espectrofotométrico no ultravioleta para o cloridrato de ranitidina. Leituras efetuadas a 313 nm.

Concentração de leitura ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbância
5,0	0,2169
7,0	0,3036
8,0	0,3454
10,0	0,4321
11,0	0,4762
12,0	0,5159
14,0	0,6038
15,0	0,6456
16,0	0,6896
18,0	0,7757

Tabela 6.2 - Resultados estatísticos referentes à reta de calibração do método espectrofotométrico no ultravioleta.

Inclinação da reta (b)	0,0431
Coefficiente de correlação (r)	0,9999
Erro padrão relativo de estimativa (Se_r)	0,20%

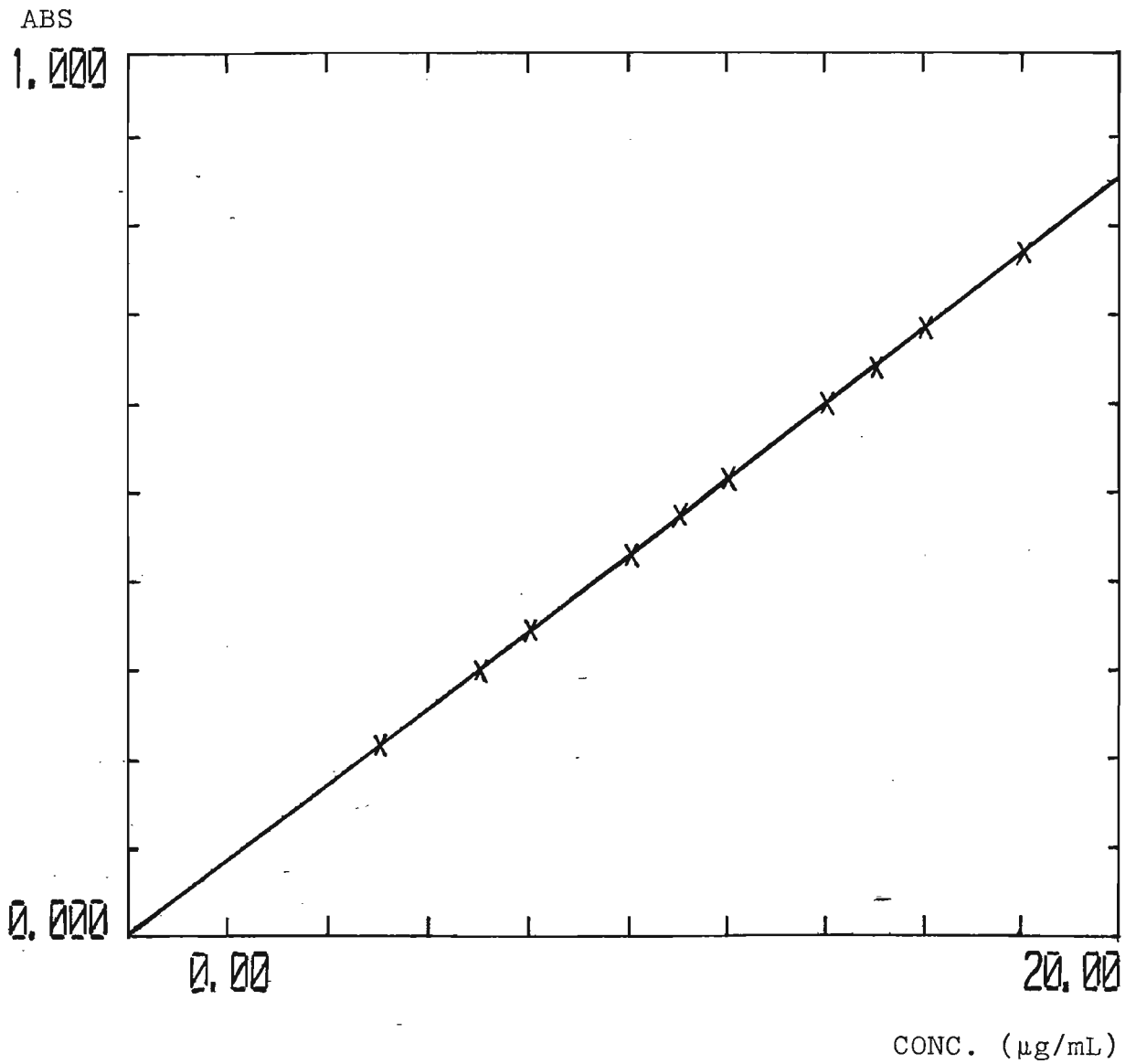


Figura 6.3 - Reta de calibração do cloridrato de ranitidina em água destilada.

Método: Espectrofotometria no ultravioleta.

Leituras efetuadas a 313 nm.

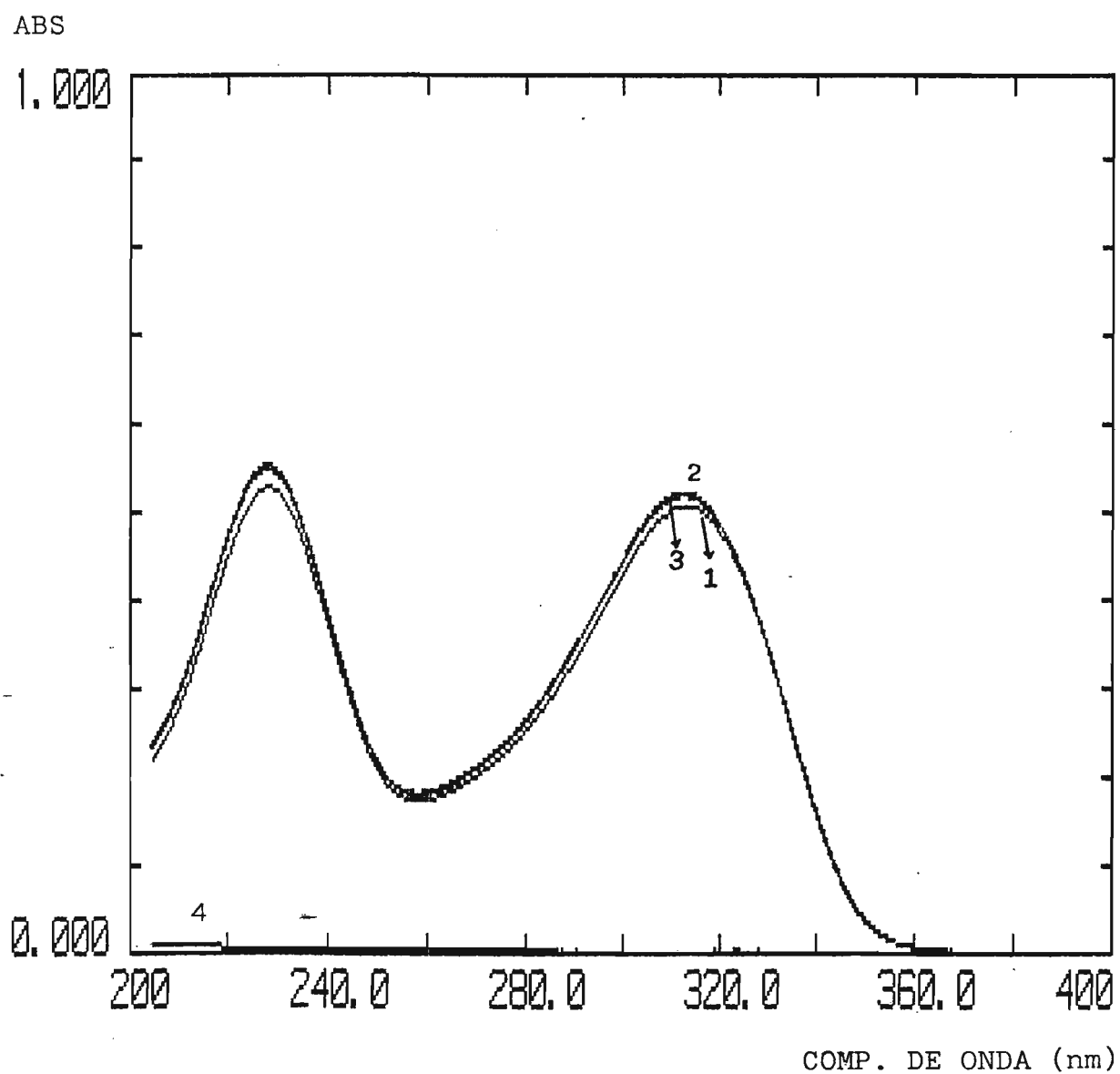


Figura 6.4 - Comparação entre os espectros de absorção:

- 1 - Amostra 1
- 2 - Amostra 5 (simulada)
- 3 - Padrão P
- 4 - Placebo da amostra 5

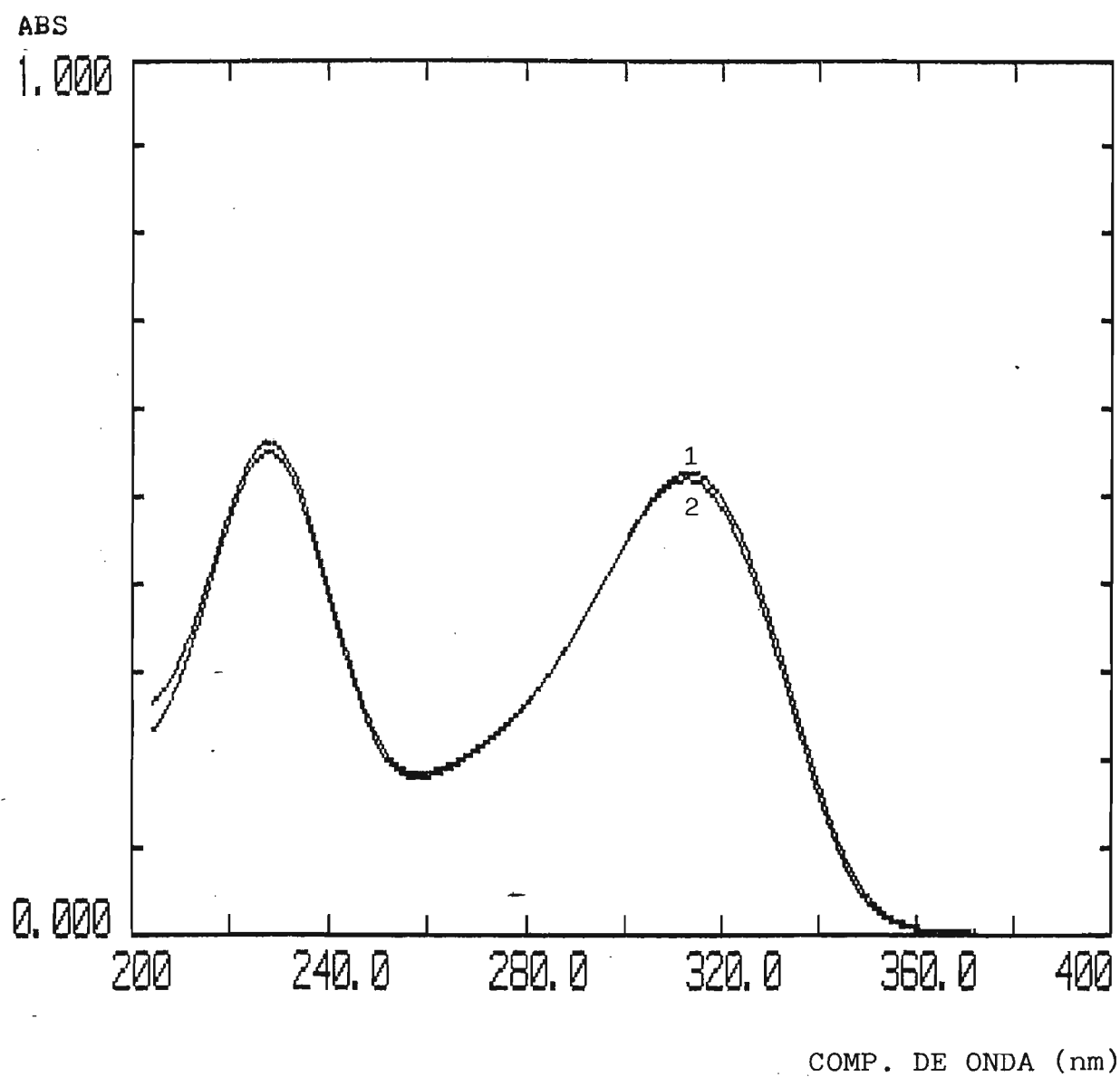


Figura 6.5 - Comparação dos espectros de absorção:

- 1 - Amostra 4
- 2 - Padrão P

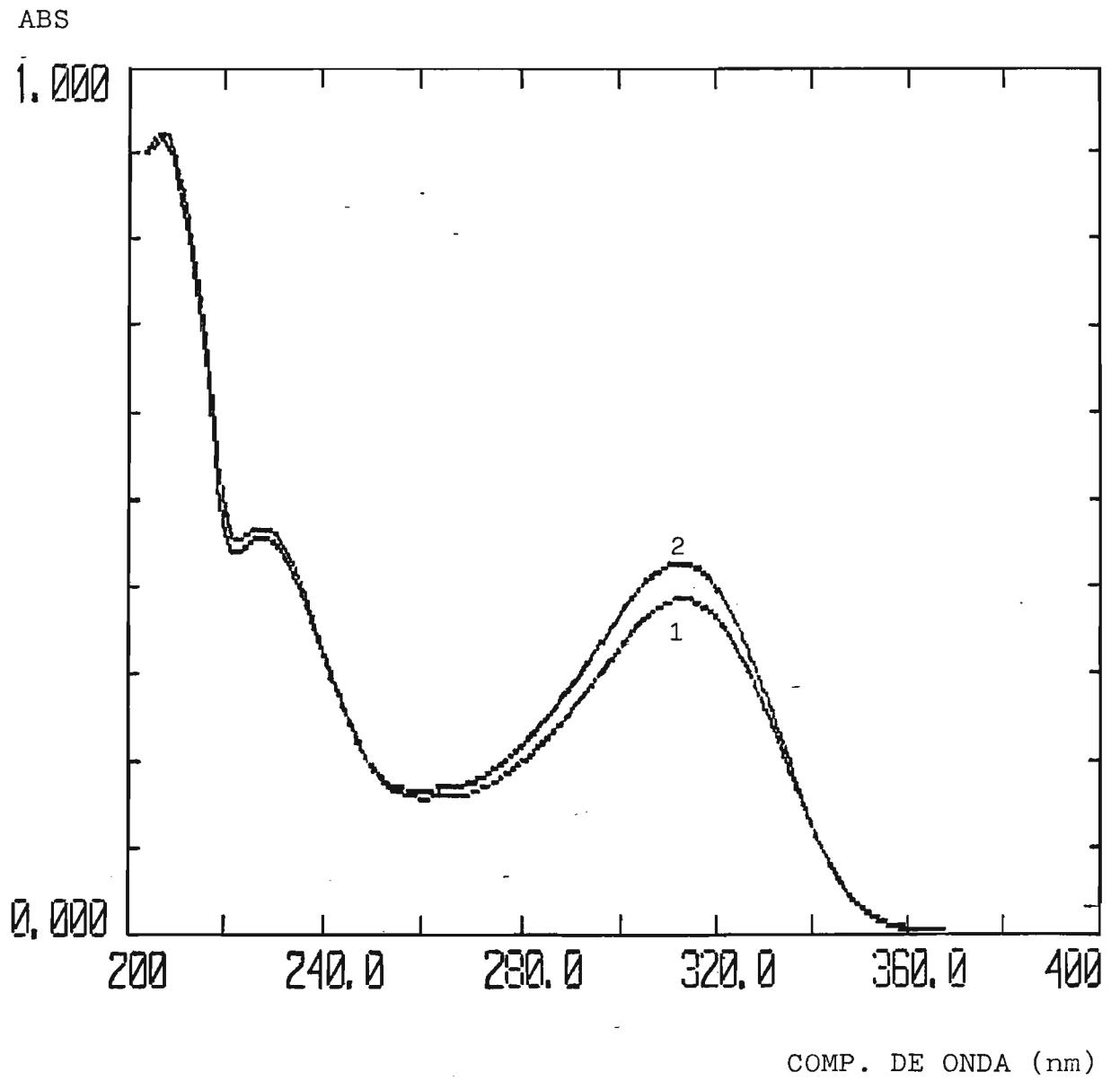


Figura 6.6 - Comparação entre os espectros de absorção:

- 1 - Amostra 2
- 2 - Amostra 6 (simulada)

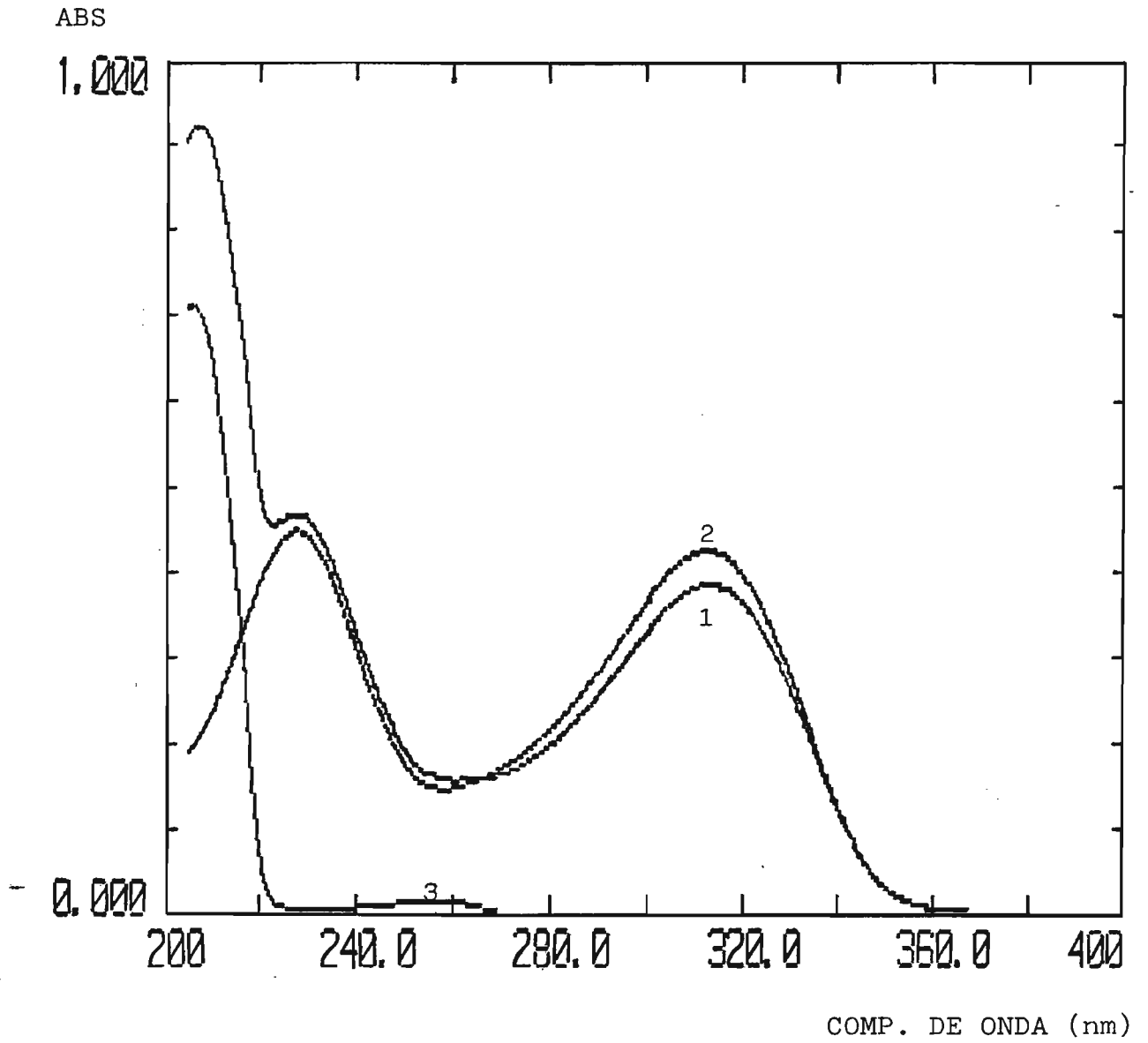


Figura 6.7 - Comparação entre os espectros de absorção:

- 1 - Amostra 2
- 2 - Padrão P₁
- 3 - Placebo¹ da amostra 6

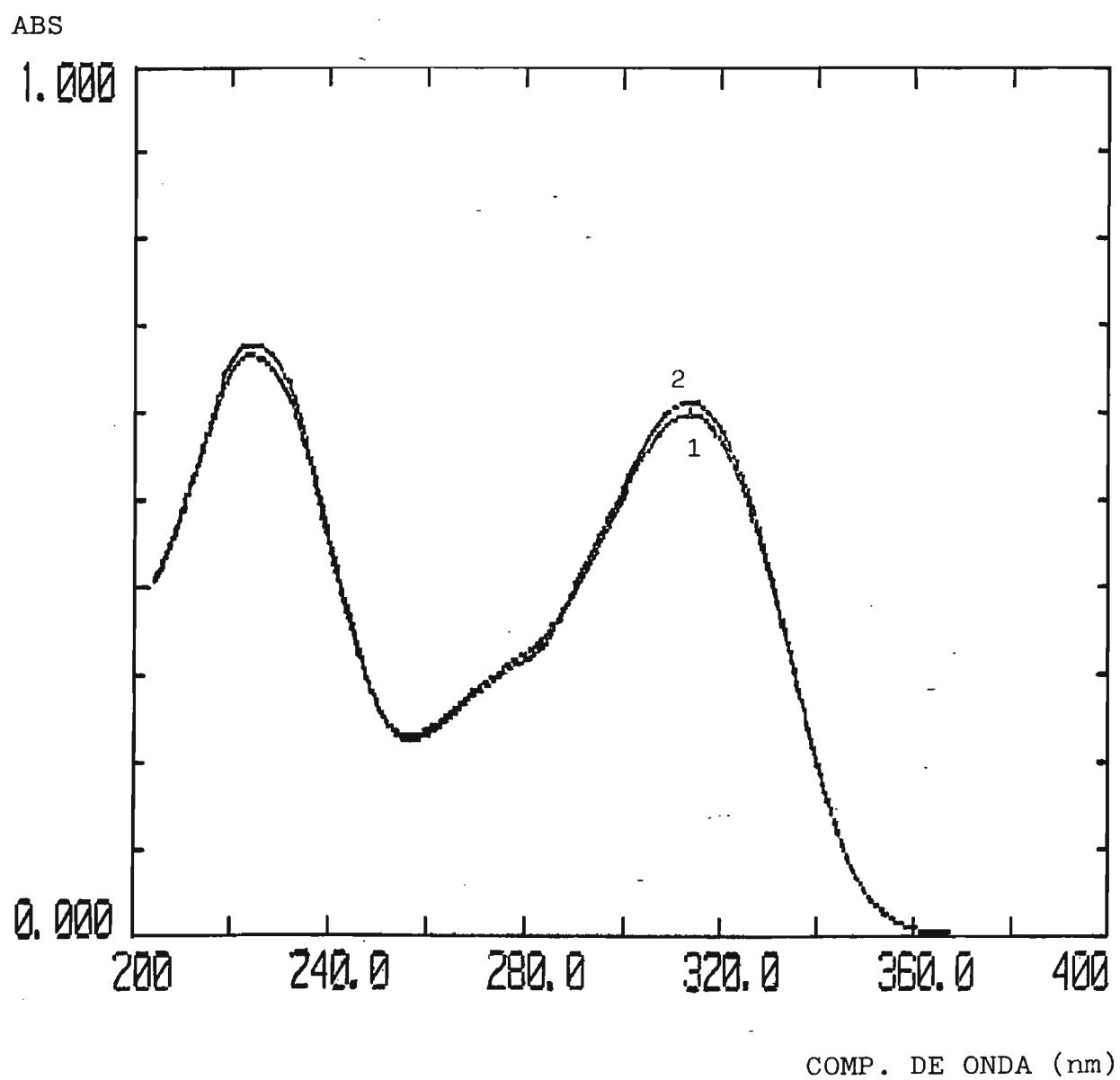


Figura 6.8 - Comparação entre os espectros de absorção:

- 1 - Amostra 3
- 2 - Amostra 7 (simulada)

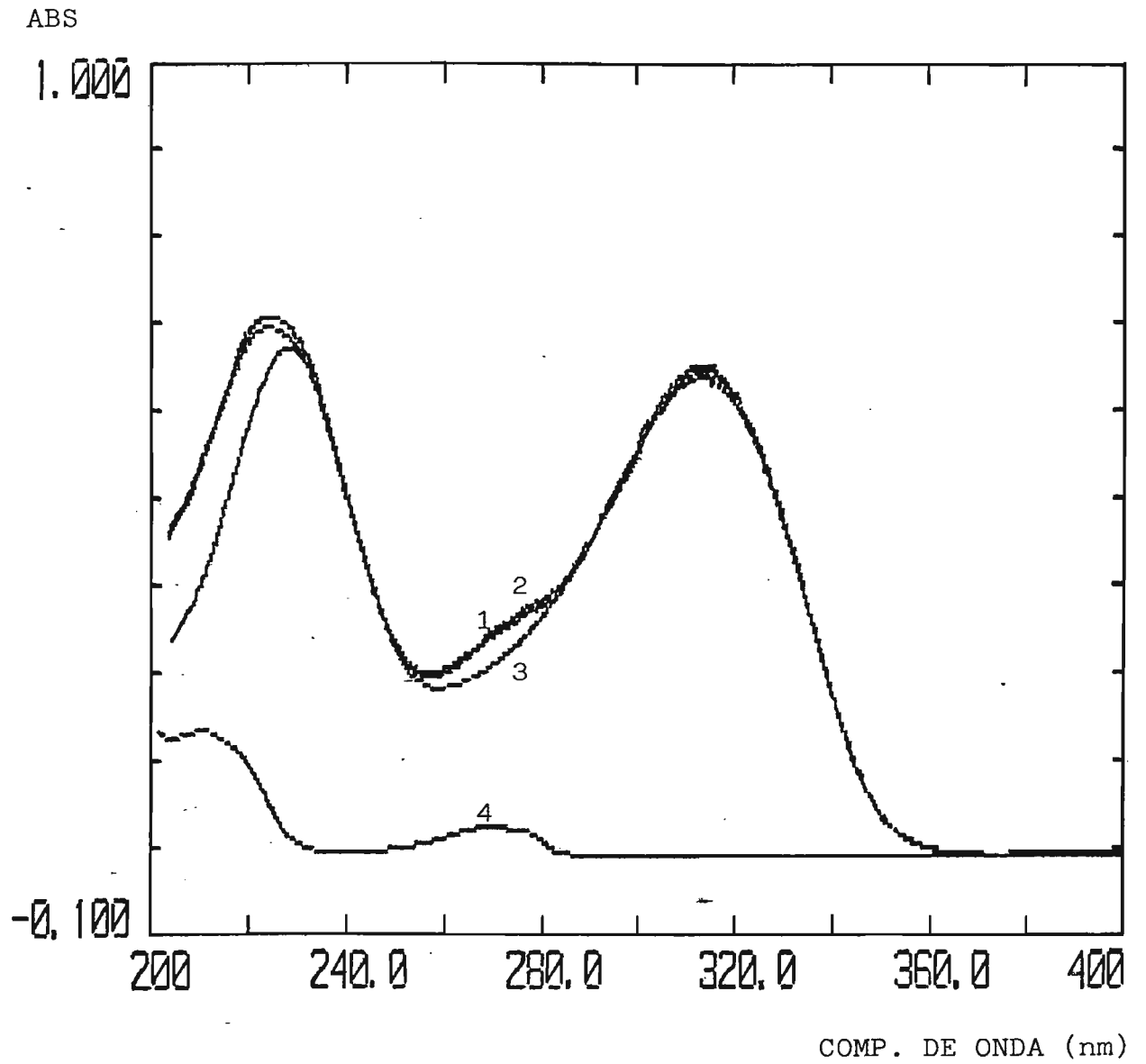


Figura 6.9 - Comparação entre os espectros de absorção:

- 1 - Amostra 3
- 2 - Amostra 7 (simulada)
- 3 - Padrão P₂
- 4 - Placebo da amostra 7

Tabela 6.3 - Resultados obtidos na determinação do teor de cloridrato de ranitidina em amostras comerciais e simuladas, utilizando-se o método espectrofotométrico no ultravioleta.

Amostra nº	Valor rotulado de cloridrato de ranitidina	Valor encontrado de cloridrato de ranitidina*	Teor percentual (%)
1	150,00mg/comp.	143,54mg/comp.	95,69
2	50,00mg/5mL	44,44mg/5mL	88,88
3	56,00mg/2mL	56,64mg/2mL	101,15
4	167,40mg/comp.	164,84mg/comp.	98,47
5	150,00mg/comp.	150,36mg/comp.	100,24
6	50,00mg/5mL	50,01mg/5mL	100,02
7	56,00mg/2mL	56,01mg/2mL	100,02

* Média de dez determinações.

Tabela 6.4 - Resultados estatísticos obtidos na determinação do teor de cloridrato de ranitidina em amostras comerciais e simuladas.

Amostra nº	Coefficiente de variação (%)	Intervalo de confiança da média
1	0,36	95,69 \pm 0,25
2	0,51	88,88 \pm 0,32
3	0,24	101,15 \pm 0,17
4	0,71	98,47 \pm 0,50
5	0,84	100,24 \pm 0,60
6	0,23	100,02 \pm 0,17
7	0,20	100,01 \pm 0,14

Tabela 6.5 - Resultados do teste de recuperação realizado nas amostras comerciais e simuladas, utilizando-se o método espectrofotométrico no ultravioleta.

Amostra nº	Quantidade de padrão adicionada ($\mu\text{g/mL}$)	Quantidade de padrão recuperada ($\mu\text{g/mL}$)*	Porcentagem de recuperação (%)
1	1,600	1,590	99,38
	3,200	3,180	99,38
	8,000	8,040	100,50
2	1,600	1,602	100,12
	3,200	3,210	100,31
	8,000	7,980	99,75
3	2,000	1,990	99,50
	4,000	4,040	101,00
	10,000	10,043	100,43
4	1,600	1,585	99,06
	3,200	3,180	99,38
	8,000	7,980	99,75
5	1,600	1,596	99,75
	3,200	3,209	100,28
	8,000	7,960	99,50
6	1,600	1,580	98,75
	3,200	3,181	99,41
	8,000	8,020	100,25
7	2,000	1,980	99,00
	4,000	4,010	100,25
	10,000	10,108	101,08

*Média de duas determinações.

6.2 - ESPECTROFOTOMETRIA NO VISÍVEL

6.2.1 - PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO

A figura 6.10 mostra, reunidas em um mesmo gráfico, as curvas obtidas das medidas de absorvância relativas à variação da concentração das soluções de MBTH e cloreto férrico.

A tabela 6.6 mostra os valores de absorvância quando foram variadas as concentrações de HCl e também quando se utilizou água destilada como solvente.

A figura 6.11 mostra o desenvolvimento da reação através do tempo (de zero a quarenta e cinco minutos).

A tabela 6.7 mostra os valores de absorvância obtidos quando se adicionou água destilada logo após a adição dos reagentes e trinta minutos após a adição dos mesmos.

A figura 6.12 mostra o comportamento da reação após a adição de água destilada, através das medidas de absorvância durante cento e vinte minutos contados a partir do período de repouso de trinta minutos.

A figura 6.13 mostra a obtenção da relação estequiométrica entre o cloridrato de ranitidina e o MBTH, através da projeção da medida de absorvância máxima até o eixo das abscissas do gráfico.

A figura 6.14 mostra o espectro de absorção do produto colorido formado na reação, traçado de 700 a 400nm.

A figura 6.15 mostra a curva de Ringbom construída a 615nm.

Os valores experimentais de absorvência para construção da reta de calibração são encontrados na tabela 6.8.

Os resultados do tratamento estatístico sobre os valores experimentais utilizados para construção da reta de calibração são encontrados na tabela 6.9.

A reta de calibração obtida é mostrada na figura 6.16.

6.2.2 - APLICAÇÃO DO MÉTODO PADRONIZADO A AMOSTRAS COMERCIAIS E SIMULADAS

6.2.2.1 - PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES

A figura 6.17 apresenta a comparação entre os espectros de absorção da reação a partir da amostra 1, do padrão e do placebo da amostra 5.

A figura 6.18 apresenta a comparação entre os espectros de absorção da reação a partir da amostra 2, do padrão e do placebo da amostra 6.

A figura 6.19 apresenta a comparação entre os espectros de absorção da reação a partir da amostra 3, do padrão e do placebo da amostra 7.

A figura 6.20 apresenta a comparação entre os espectros de absorção da reação a partir da amostra 4 e do padrão.

6.2.2.2 - DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORIDRATO DE RANITIDINA NAS AMOSTRAS COMERCIAIS (1, 2, 3 e 4) E SIMULADAS (5, 6 e 7)

A tabela 6.10 apresenta os resultados obtidos da análise

lise das amostras comerciais e simuladas.

O tratamento estatístico dos valores experimentais obtidos encontram-se na tabela 6.11.

6.2.3 - TESTE DE RECUPERAÇÃO

Os resultados do teste de recuperação efetuado nas amostras comerciais e simuladas, utilizando-se o método espectrofotométrico no visível, são encontrados na tabela 6.12.

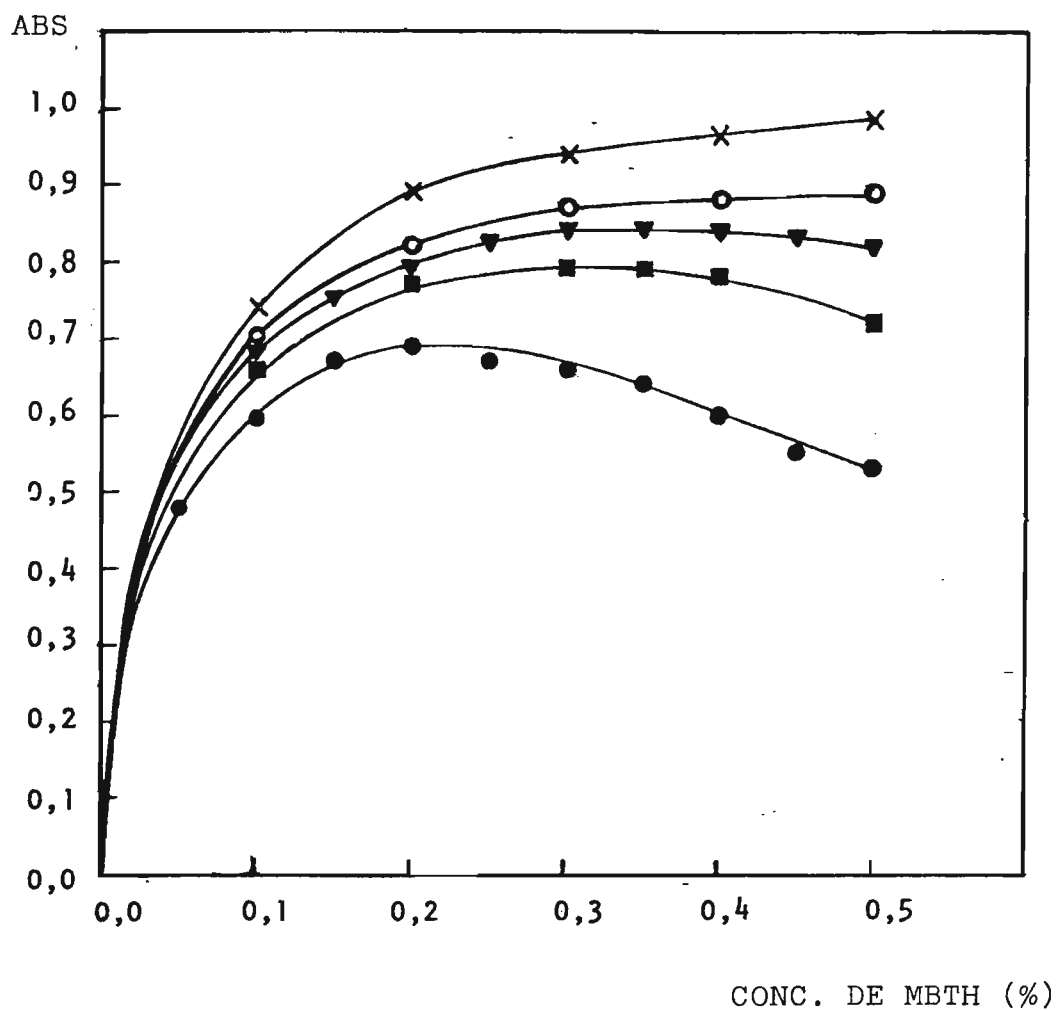


Figura 6.10 - Determinação das concentrações ótimas de MBTH e cloreto férrico.

- Cloreto férrico a 0,20%
- Cloreto férrico a 0,30%
- ▼— Cloreto férrico a 0,40%
- Cloreto férrico a 0,50%
- ×— Cloreto férrico a 1,00%

Tabela 6.6 - Influência da concentração de HCl como solvente da reação.

Solvente	Abs a 615nm
Água destilada	0,1654
HCl 0,01M	0,5131
HCl 0,1M	0,5225
HCl 1,0M	0,5718

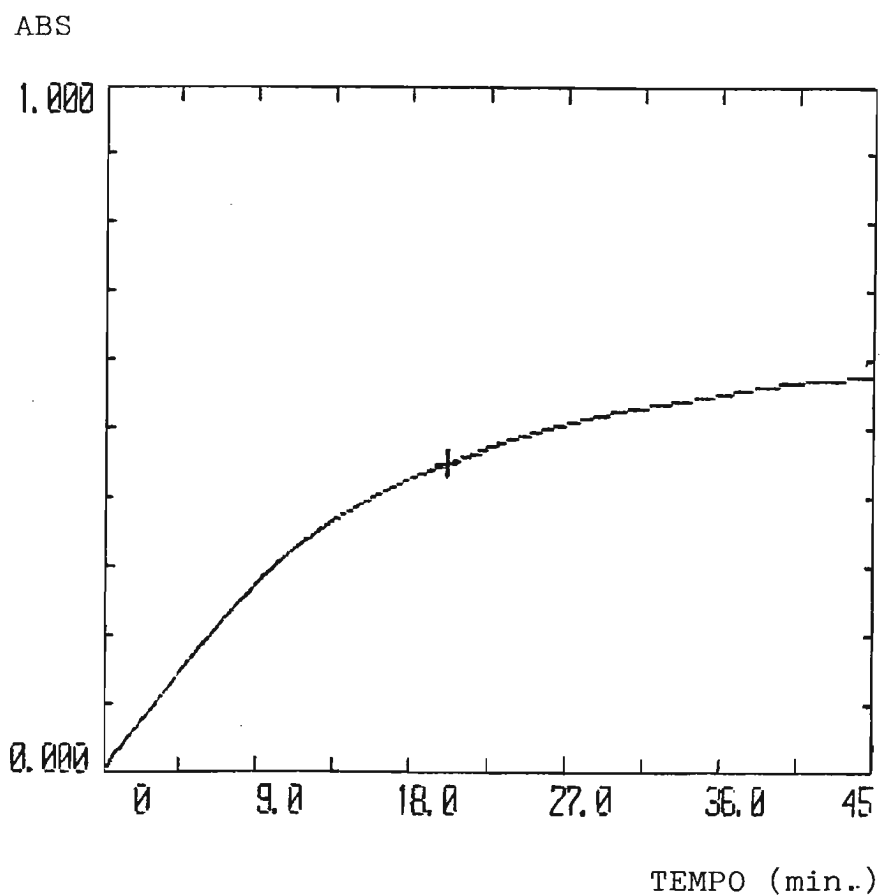


Figura 6.11 - Determinação do tempo necessário para a estabilização da reação.

Tabela 6.7 - Influência da adição de água na estabilização da reação.

	Abs a 615nm
Adição de água logo após a adição dos reagentes	0,1575
Adição de água trinta minutos após a adição dos reagentes	0,4997

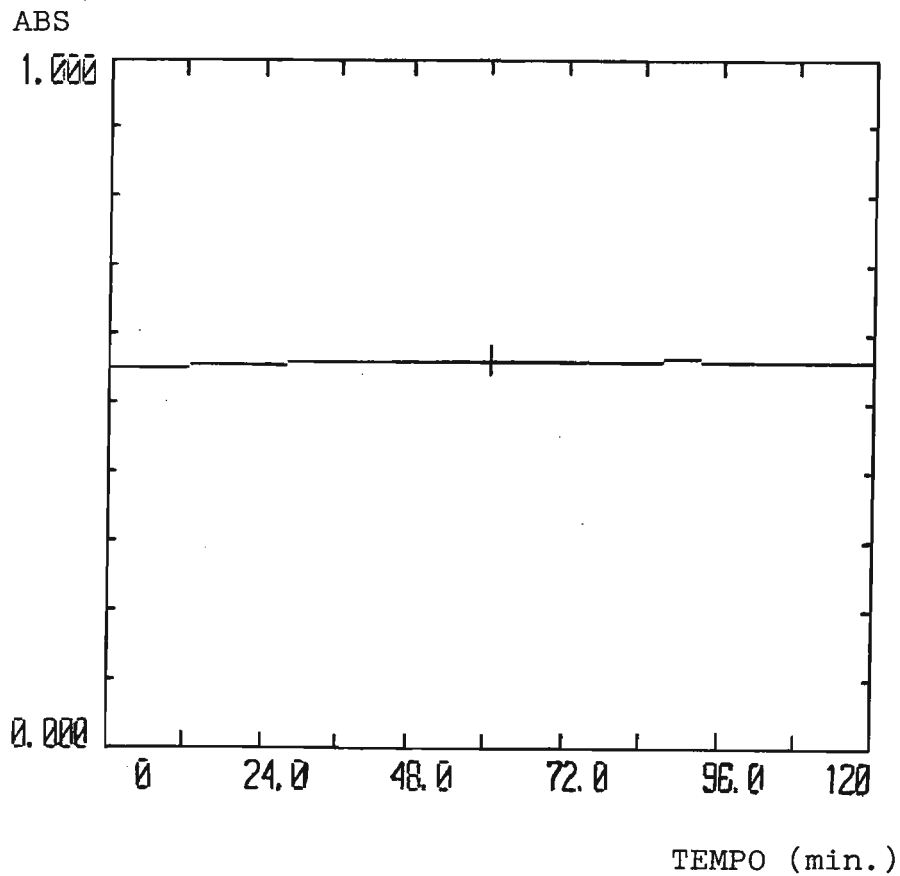


Figura 6.12 - Determinação do tempo de estabilidade da reação.

ABS
x 100

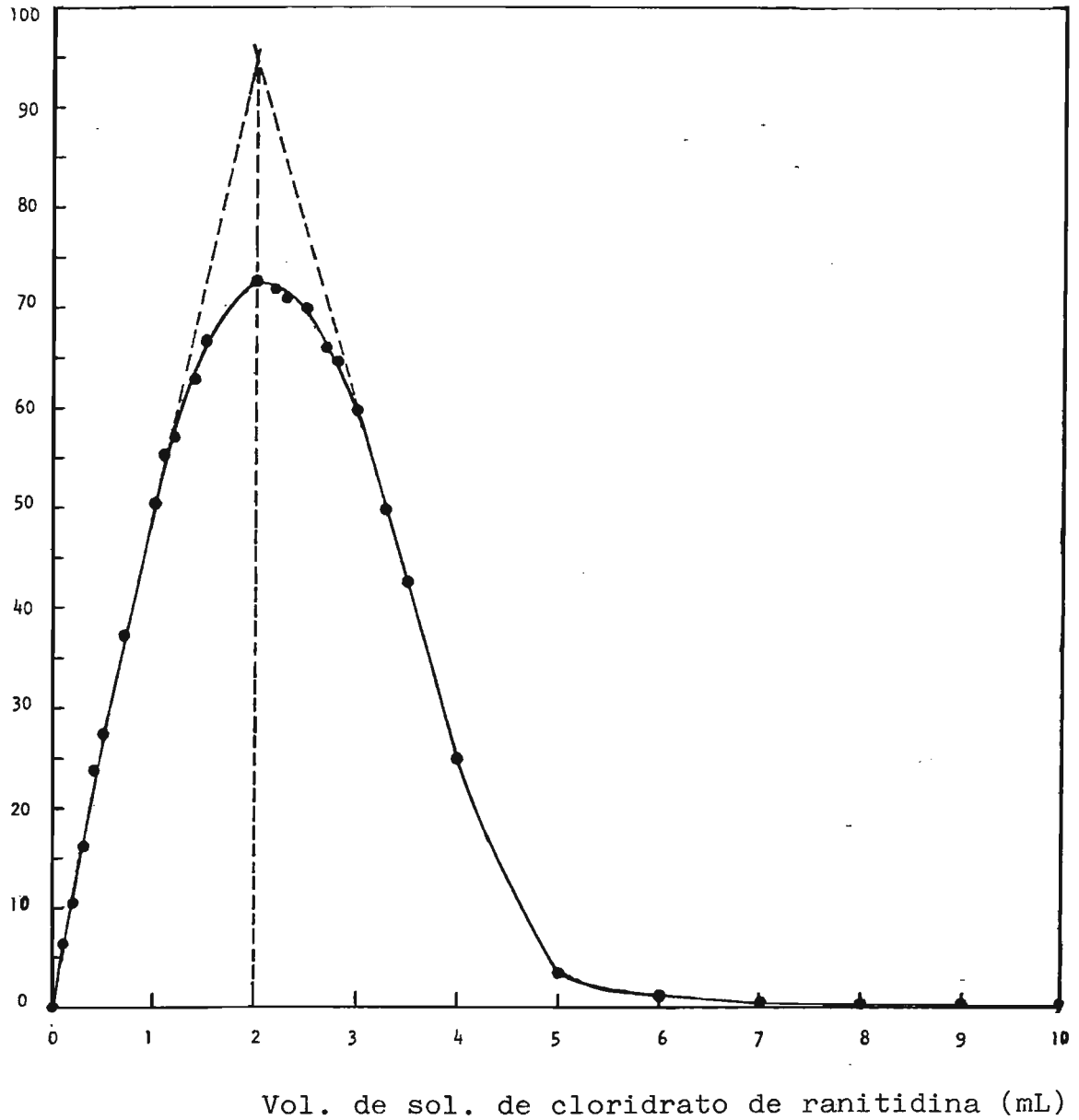


Figura 6.13 - Determinação da relação estequiométrica entre o cloridrato de ranitidina e o MBTH.

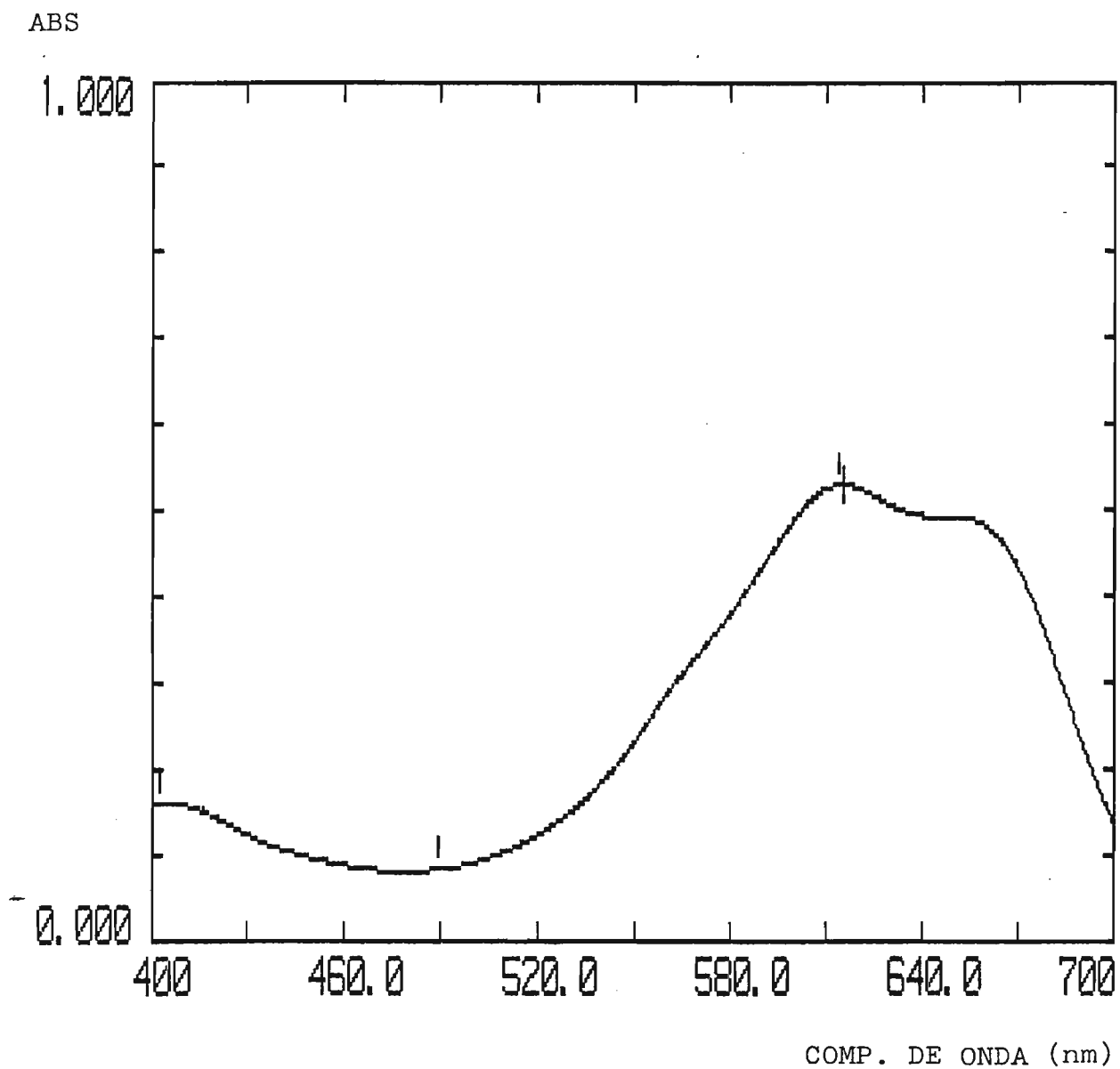


Figura 6.14 - Espectro de absorção do produto colorido formado através da reação entre o cloridrato de ranitidina e o MBTH, em presença de cloreto férrico.

100-T

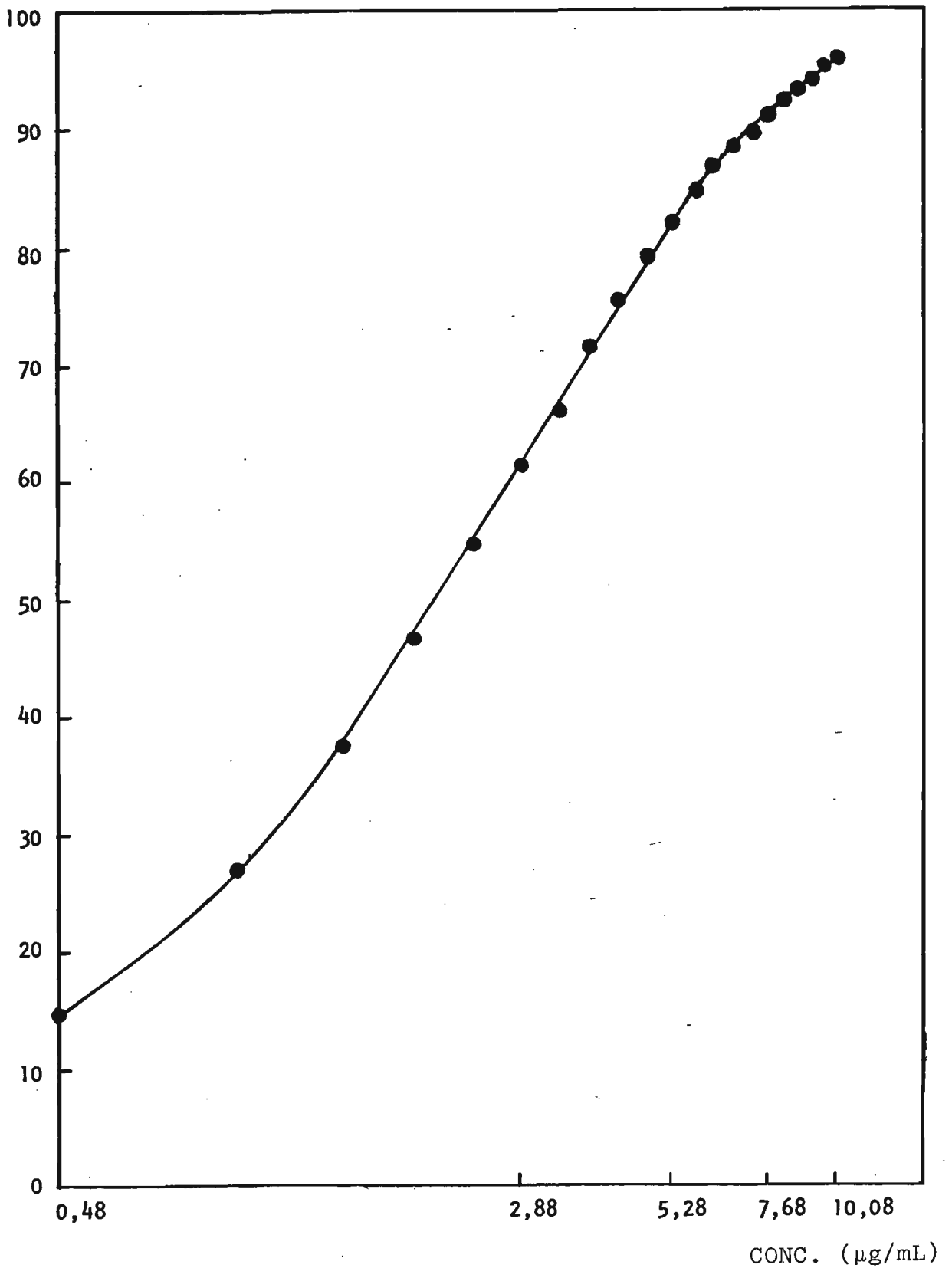


Figura 6.15 - Curva de Ringbom obtida pelo método espectrofotométrico no visível para o cloridrato de ranitidina. Concentração das soluções: 0,48 a 10,08µg/mL. Leituras efetuadas a 615nm.

Tabela 6.8 - Resultados experimentais obtidos na determinação da reta de calibração do método espectrofotométrico no visível para o cloridrato de ranitidina. Leituras e fetuadas a 615nm.

Concentração de leitura ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbância
1,44	0,2041
1,92	0,2723
2,40	0,3409
2,88	0,4117
3,36	0,4687
3,84	0,5465
4,32	0,6104
4,80	0,6798
5,28	0,7467
5,76	0,8084

Tabela 6.9 - Resultados estatísticos referentes à reta de calibração do método espectrofotométrico no visível.

Inclinação da reta (b)	0,1413
Coefficiente de correlação (r)	0,9999
Erro padrão relativo de estimativa (Se_r)	0,69%

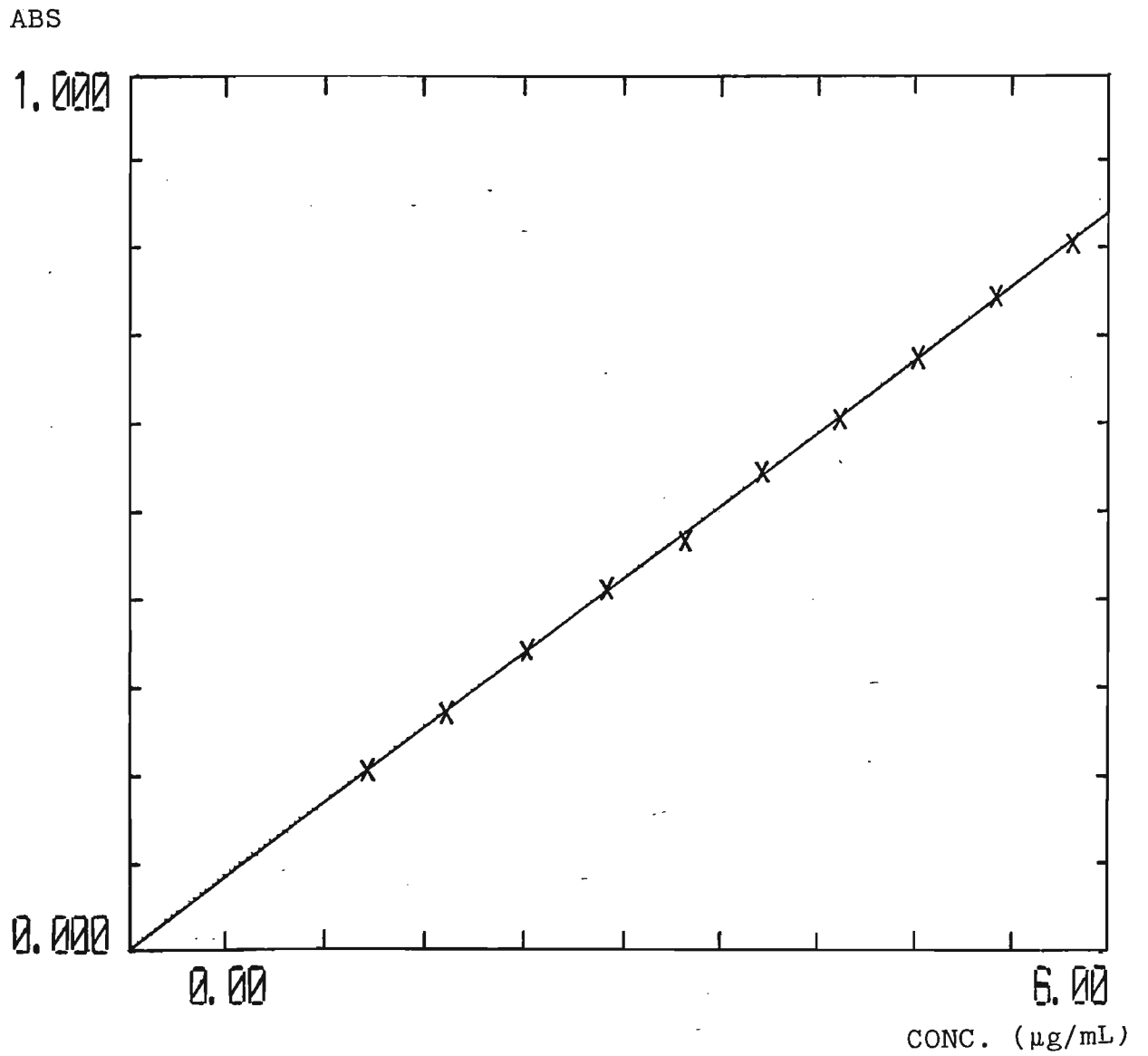


Figura 6.16 - Reta de calibração do método espectrofotométrico no visível.

Leituras efetuadas a 615 nm.

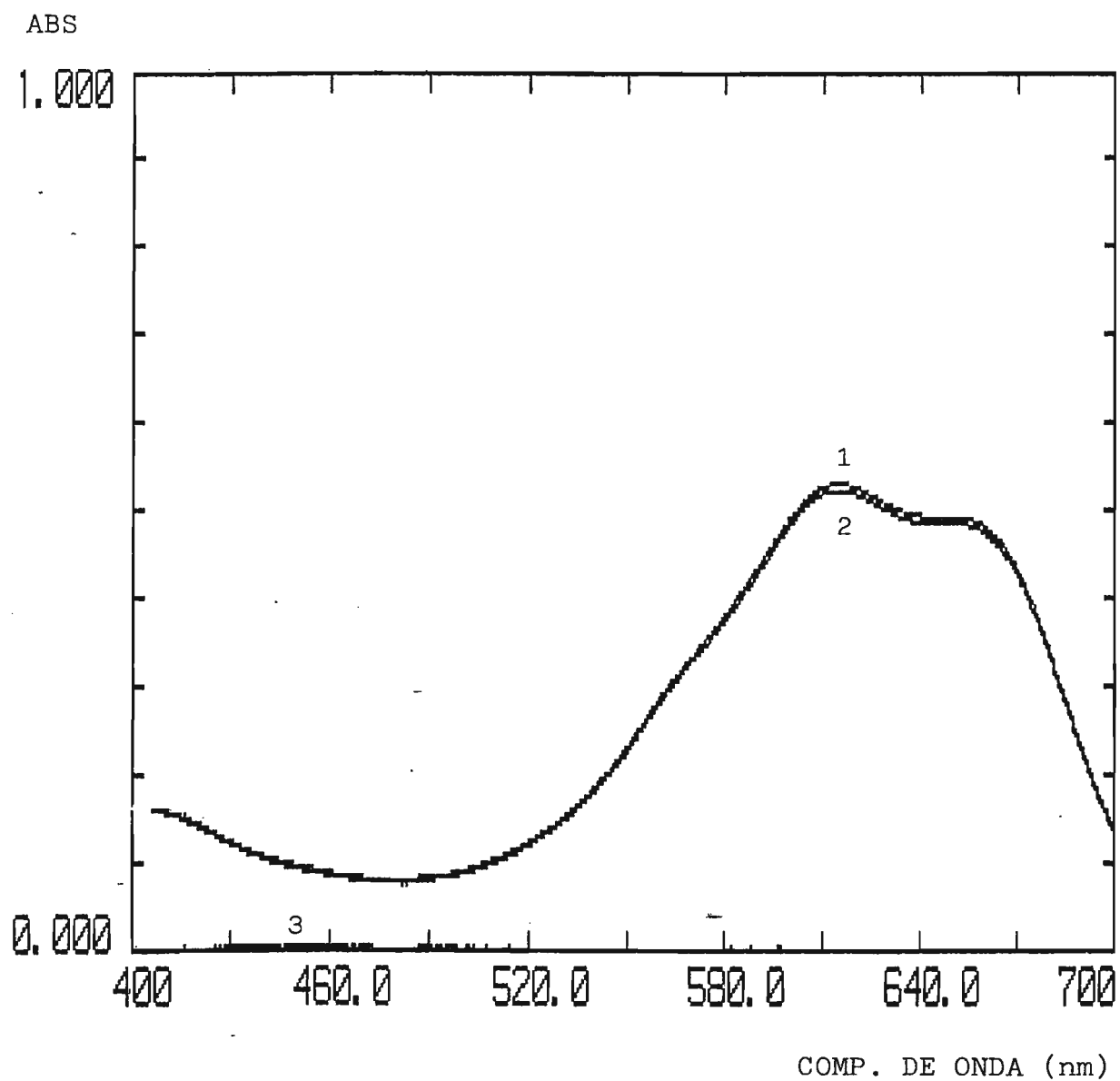


Figura 6.17 - Comparação entre os espectros de absorção no visível:

- 1 - Padrão
- 2 - Amostra 1
- 3 - Placebo da amostra 5

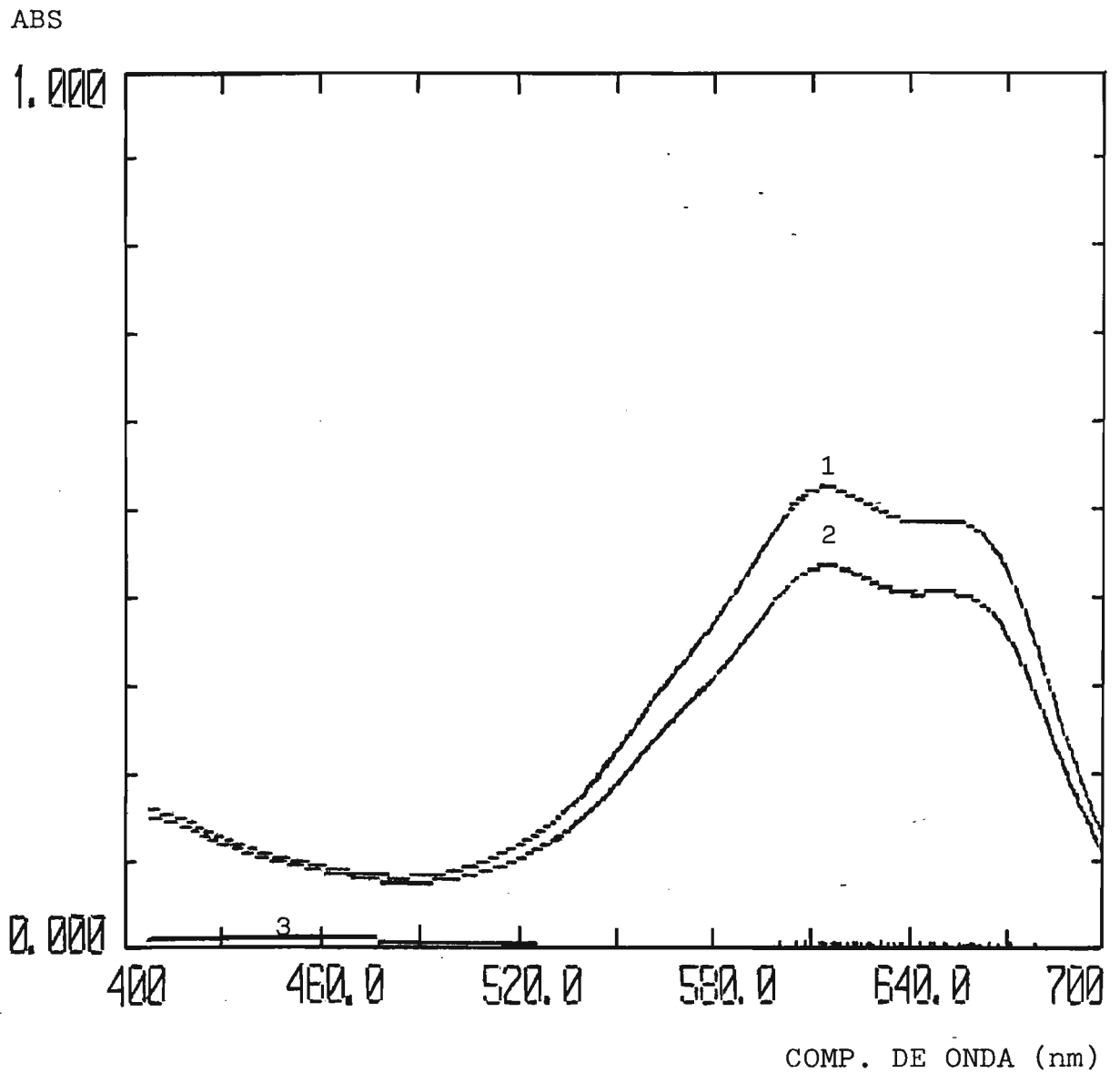


Figura 6.18 - Comparação entre os espectros de absorção no visível:

- 1 - Padrão
- 2 - Amostra 2
- 3 - Placebo da amostra 6

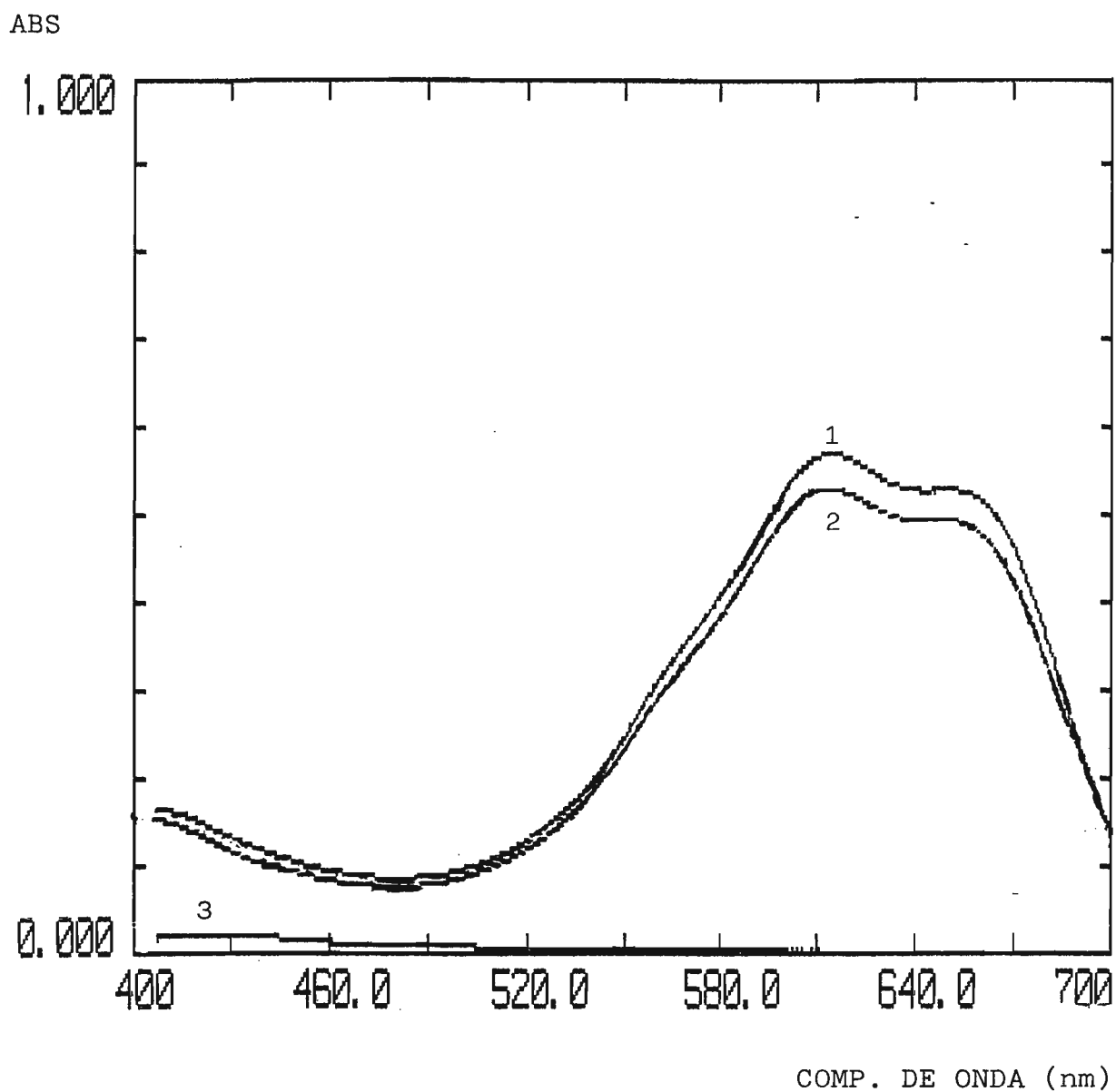


Figura 6.19 - Comparação entre os espectros de absorção no visível:

- 1 - Amostra 3
- 2 - Padrão
- 3 - Placebo da amostra 7

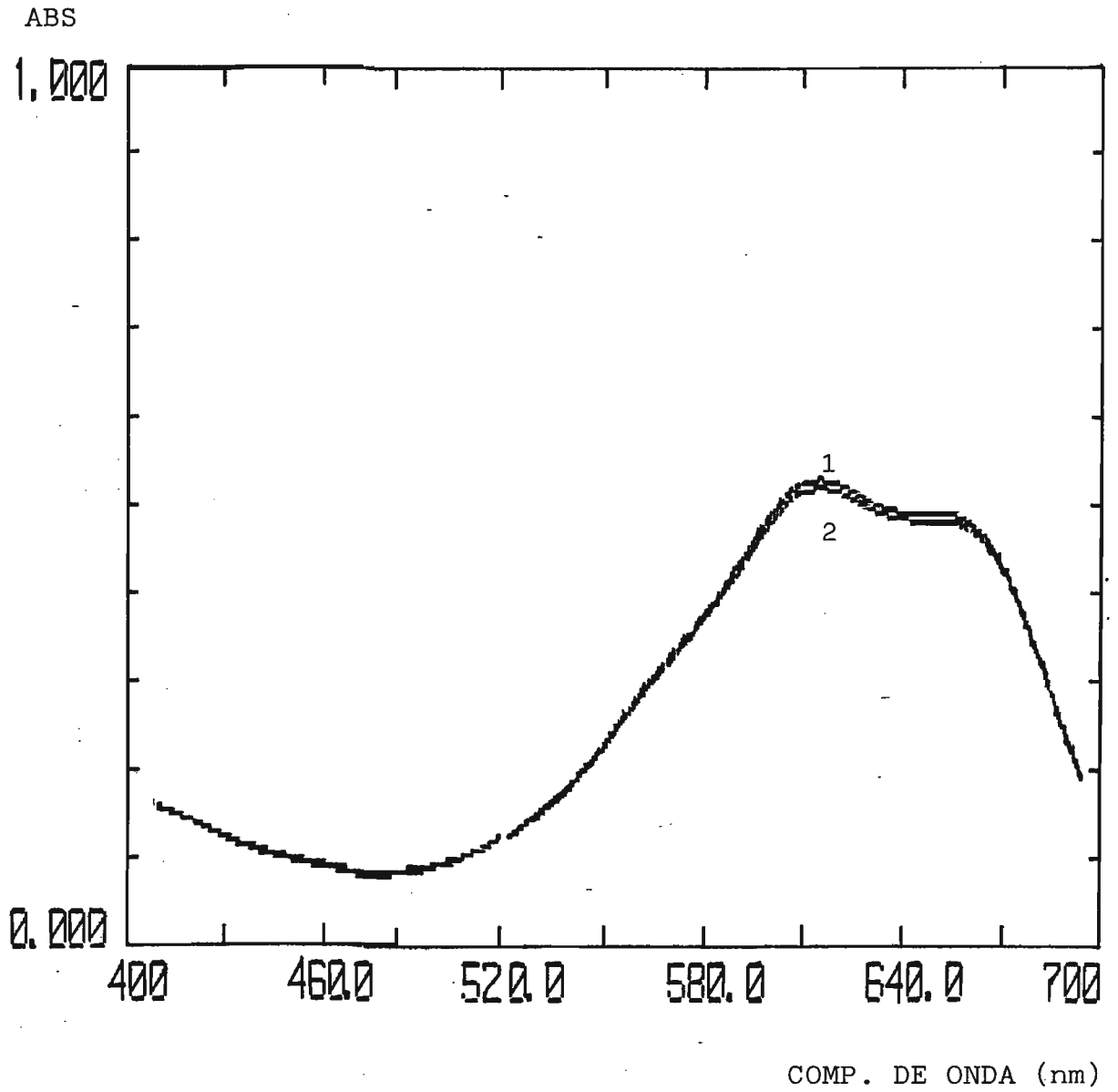


Figura 6.20 - Comparação entre os espectros de absorção no visível:

1 - Padrão

2 - Amostra 4

Tabela 6.10 - Resultados obtidos na determinação do teor de cloridrato de ranitidina em amostras comerciais e simuladas, utilizando-se o método espectrofotométrico no visível.

Amostra nº	Valor rotulado de cloridrato de ranitidina	Valor encontrado de cloridrato de ranitidina*	Teor percentual (%)
1	150,00mg/comp.	143,67mg/comp.	95,78
2	50,00mg/5mL	43,34mg/5mL	86,69
3	56,00mg/2mL	56,15mg/2mL	100,27
4	167,40mg/comp.	164,12mg/comp.	98,04
5	150,00mg/comp.	150,51mg/comp.	100,34
6	50,00mg/5mL	50,29mg/5mL	100,58
7	56,00mg/2mL	56,24mg/2mL	100,42

* Média de dez determinações.

Tabela 6.11 - Resultados estatísticos obtidos na determinação do teor de cloridrato de ranitidina em amostras comerciais e simuladas.

Amostra nº	Coefficiente de variação (%)	Intervalo de confiança da média
1	0,72	95,78 \pm 0,49
2	0,53	86,69 \pm 0,33
3	0,61	100,27 \pm 0,44
4	0,59	98,04 \pm 0,42
5	0,57	100,34 \pm 0,41
6	0,43	100,58 \pm 0,31
7	0,56	100,42 \pm 0,40

Tabela 6.12 - Resultados do teste de recuperação realizado nas amostras comerciais e simuladas, utilizando-se o método espectrofotométrico no visível.

Amostra nº	Quantidade de padrão adicionada ($\mu\text{g/mL}$)	Quantidade de padrão recuperada ($\mu\text{g/mL}$)*	Porcentagem de recuperação (%)
1	0,400	0,395	98,75
	0,800	0,794	99,25
	2,000	2,001	100,05
2	0,800	0,797	99,62
	1,600	1,586	99,12
	4,000	3,961	99,02
3	0,400	0,403	100,75
	0,800	0,808	101,00
	2,000	1,987	99,35
4	0,400	0,392	98,00
	0,800	0,779	97,37
	2,000	2,008	100,40
5	0,400	0,402	100,50
	0,800	0,805	100,62
	2,000	1,998	99,90
6	0,800	0,809	101,12
	1,600	1,597	99,81
	4,000	4,001	100,02
7	0,400	0,392	98,00
	0,800	0,804	100,50
	2,000	2,023	101,15

* Média de duas determinações.

7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS RESULTADOS

7.1 - CÁLCULO DA RETA DE CALIBRAÇÃO

Com os dados experimentais obtidos, foram calculadas e construídas as retas de calibração, aplicando-se o método dos mínimos quadrados (14, 66).

A seguir, apresenta-se o roteiro utilizado para o cálculo da reta de calibração, empregando-se os resultados obtidos na padronização do método espectrofotométrico no visível:

Concentração ($\mu\text{g/mL}$) X	Absorbância Y	X^2	Y^2	XY
1,44	0,2041	2,0736	0,04165681	0,293904
1,92	0,2723	3,6864	0,07414729	0,522816
2,40	0,3409	5,7600	0,11621281	0,818160
2,88	0,4117	8,2944	0,16949689	1,185696
3,36	0,4687	11,2896	0,21967969	1,574832
3,84	0,5465	14,7456	0,29866225	2,098560
4,32	0,6104	18,6624	0,37258816	2,636928
4,80	0,6798	23,0400	0,46212804	3,263040
5,28	0,7467	27,8784	0,55756089	3,942576
5,76	0,8084	33,1776	0,65351056	4,656384
$\Sigma X =$	$\Sigma Y =$	$\Sigma X^2 =$	$\Sigma Y^2 =$	$\Sigma XY =$
36,0	5,0895	148,608	2,96564339	20,992896

Calcularam-se os seguintes valores:

$$\begin{aligned}\Sigma X \cdot \Sigma Y &= 36,0 \cdot 5,0895 = 183,222 \\ (\Sigma X)^2 &= (36,0)^2 = 1296,0 \\ (\Sigma Y)^2 &= (5,0895)^2 = 25,90301025\end{aligned}$$

Equação da reta de calibração: $Y = a + bX$

onde Y = Absorbância
 X = Concentração
 a = Intersecção da reta
 b = Inclinação da reta

1) Cálculo do valor de b:

Este valor foi calculado pela expressão:

$$b = \frac{n \Sigma XY - \Sigma X \Sigma Y}{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2}$$

onde n é o número de pontos da reta de calibração.

Assim,

$$b = \frac{(10 \cdot 20,992896) - 183,222}{(10 \cdot 148,608) - 1296,0} = 0,140503788 \approx 0,1405$$

2) Cálculo do valor de a:

Foi calculado pela expressão:

$$a = \bar{Y} - b\bar{X}$$

$$\text{Sabendo-se que } \bar{Y} = \frac{\sum Y}{n} = \frac{5,0895}{10} = 0,50895$$

$$\text{e } \bar{X} = \frac{\sum X}{n} = \frac{36,0}{10} = 3,60$$

então,

$$a = 0,50895 - (0,140503788 \cdot 3,60)$$

$$a = 0,003136363 \approx 0,0031$$

3) Cálculo do erro padrão da estimativa (Se):

$$Se = \sqrt{\frac{\sum (Y - \hat{Y})^2}{n - 2}}$$

Se é o desvio padrão entre os valores experimentais (Y) e os valores calculados a partir da equação da reta (\hat{Y}). O termo $n - 2$ no denominador está relacionado aos dois graus de liberdade perdidos quando os parâmetros b e a foram especificados. O termo $(Y - \hat{Y})^2$ no numerador foi obtido como mostrado a seguir:

Conc. ($\mu\text{g/mL}$) X	Abs Y	$\hat{Y} = a + bX$	$Y - \hat{Y}$	$(Y - \hat{Y})^2$
1,44	0,2041	0,205461818	-0,001361818	0,000001855
1,92	0,2723	0,272903633	-0,000603636	0,000000364
2,40	0,3409	0,340345454	0,000554546	0,000000308
2,88	0,4117	0,407787272	0,003912728	0,000015309
3,36	0,4687	0,475229091	-0,006529091	0,000042629
3,84	0,5465	0,542670909	0,003829091	0,000014662
4,32	0,6104	0,610112727	0,000287273	0,000000083
4,80	0,6798	0,677554545	0,002245455	0,000005042
5,28	0,7467	0,744996364	0,001703636	0,000002902
5,76	0,8084	0,812438182	-0,004038182	0,000016307

$$\sum = 0,000099461$$

Assim,

$$Se = \sqrt{\frac{0,000099461}{8}} = 0,003525993$$

Erro padrão relativo da estimativa (Se_r):

$$Se_r = 100 \cdot \frac{Se}{\bar{Y}}$$

$$Se_r = 0,692797479 \approx 0,69\%$$

4) Teste de significância de a:

Aplicou-se o teste "t".

$t = \left| \frac{a}{Sa} \right|$, onde Sa é o desvio padrão de a e pode ser calculado pela fórmula:

$$Sa = Se \cdot \sqrt{\frac{\sum X^2}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}}$$

$$Sa = 0,00311770$$

Então:

$$t = \left| \frac{0,003136363}{0,003117700} \right| = 1,005986144 \approx 1,0060$$

O valor tabelado para o nível de significância 5% e 8 graus de liberdade é $t=2,306$. Como o valor calculado de t é menor que o valor tabelado, conclui-se que a intersecção não é significativamente diferente de zero; logo a reta passa pela origem.

Com \underline{a} = zero, calculou-se b' :

$$b' = \frac{\Sigma XY}{\Sigma X^2} = \frac{20,992896}{148,608} = 0,141263566 \approx 0,1413$$

E a equação da reta fica:

$$Y = 0,1413X$$

5) Cálculo do coeficiente de correlação (r):

O coeficiente de correlação está relacionado à linearidade da reta e foi calculado pela expressão:

$$r = \frac{\Sigma XY}{\sqrt{(\Sigma X^2) \cdot (\Sigma Y^2)}}$$

$$r = \frac{20,992896}{20,99329257} = 0,999981111 \approx 0,9999$$

7.2 - CÁLCULO DO COEFICIENTE DE VARIAÇÃO - DETERMINAÇÃO DO CLORIDRATO DE RANITIDINA EM MEDICAMENTOS

O coeficiente de variação está relacionado com a precisão (88).

Para cada amostra de medicamento foi calculado o coeficiente de variação, com base nos resultados de dez análises.

O roteiro mostrado a seguir é referente aos cálculos efetuados para a amostra 1, quando analisada pelo método espectrofotométrico no ultravioleta.

Amostra (nº)	Absorbância (313nm)
1	0,4978
2	0,4998
3	0,5032
4	0,5024
5	0,5026
6	0,4999
7	0,5031
8	0,5015
9	0,5006
10	0,5031

Média = 0,5014

Padrão (nº)	Absorbância (313nm)
1	0,5203
2	0,5217
3	0,5227

Média = 0,5216

A concentração (x) de cloridrato de ranitidina referente a cada ensaio foi calculada pela expressão:

$$\frac{Aa}{Ap} \times Cp = x \text{ } \mu\text{g de cloridrato de ranitidina/mL}$$

onde A_a = Absorbância da amostra

A_p = Absorbância do padrão

C_p = Concentração do padrão

O valor percentual de cloridrato de ranitidina na amostra (x%) é calculado por:

$$x\% = \frac{x}{x_t} \cdot 100$$

onde x_t é a concentração teórica de cloridrato de ranitidina em $\mu\text{g/mL}$.

Assim, para os dez valores obtidos nas análises, tem-se:

Amostra (nº)	Concentração (x%)	$(x - \bar{x})$	$(x - \bar{x})^2$
1	95,01	-0,68	0,4624
2	95,39	-0,30	0,0900
3	96,04	0,35	0,1225
4	95,88	0,19	0,0361
5	95,92	0,23	0,0529
6	95,41	-0,28	0,0784
7	96,02	0,33	0,1089
8	95,71	0,02	0,0004
9	95,54	-0,15	0,0225
10	96,02	0,33	0,1089
Média (\bar{x}) = 95,69		$\Sigma = 0,24$	$\Sigma = 1,0830$

Cálculo da variância:

$$V = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n - 1}, \quad \text{onde } \underline{n} = 10$$

$$V = \frac{1,0830}{9} = 0,120333333$$

Cálculo do desvio padrão (S):

$$S = \sqrt{V}$$

$$S = 0,346890953$$

O coeficiente de variação (CV) foi calculado pela expressão:

$$CV = \frac{100 \cdot S}{\bar{x}}$$

$$CV = 0,362515365 \approx 0,36\%$$

O limite de confiança da média (LC) para $P = 95\%$, foi calculado:

$LC = \bar{x} \pm t \cdot S_m$, onde $t = 2,262$ para 9 graus de liberdade.

S_m é o desvio padrão da média e é calculado pela expressão:

$$S_m = \frac{S}{\sqrt{n}}, \quad \text{sendo } \underline{n} = 10$$

$$S_m = 0,109696551$$

Assim,

$$LC = 95,69 \pm 0,248133598$$

$$= 95,69 \pm 0,25$$

7.3 - COMPARAÇÃO DA EXATIDÃO E PRECISÃO DOS MÉTODOS PROPOSTOS

Os testes de significância são amplamente utilizados na avaliação de resultados experimentais, servindo para verificar se a diferença entre dois resultados é significativa ou se pode ser atribuída ao acaso (47).

Dentre eles, os mais importantes são o teste "t", usado para verificar a significância de uma média ou da diferença entre duas médias, e o teste "F", usado na comparação de duas variâncias (51).

A comparação da exatidão de dois métodos é feita pelo teste "t" (47, 50, 51, 81).

Este teste permite avaliar se as médias dos valores experimentais, obtidas por dois métodos distintos, têm diferença significativa a determinado nível (probabilidade).

Sejam \bar{x}_1 e \bar{x}_2 as médias obtidas das análises de uma mesma amostra, através de dois métodos diferentes (método 1 e método 2).

O desvio padrão (S), baseado em ambos os métodos, é obtido através da variância calculada para os mesmos:

$$S^2 = \frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

onde S_1^2 é a variância da amostra pelo método 1

S_2^2 é a variância da amostra pelo método 2

n_1 é o número de determinações pelo método 1

n_2 é o número de determinações pelo método 2

O valor de \underline{t} é calculado pela expressão:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}}$$

onde t tem $n_1 + n_2 - 2$ graus de liberdade.

Se o valor calculado para t exceder o tabelado, considera-se que a diferença entre a exatidão dos dois métodos é significativa, a determinado nível (probabilidade).

A comparação da precisão de dois métodos é efetuada com a aplicação do teste F (47, 51, 81).

\underline{F} é definido como a proporção entre as variâncias dos resultados obtidos, através de métodos diferentes, para uma mesma amostra:

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2}, \quad \text{sendo que } S_1^2 > S_2^2$$

S_1^2 e S_2^2 são as variâncias dos resultados obtidos pelo método 1 e 2, respectivamente.

O valor de \underline{F} está relacionado aos graus de liberdade de S_1^2 e S_2^2 . Se o valor calculado exceder o valor tabelado, a certo nível de probabilidade, a diferença entre a precisão dos dois métodos é significativa.

A tabela 7.1 apresenta os parâmetros envolvidos nos cálculos efetuados na comparação dos métodos propostos neste trabalho.

A tabela 7.2 apresenta os valores de \underline{t} calculados na comparação da exatidão dos dois métodos e a tabela 7.3 mostra os valores de \underline{F} obtidos na comparação da precisão dos mesmos.

Tabela 7.1 - Resultados obtidos na determinação do cloridrato de ranitidina em amostras comerciais e simuladas.

Amostra nº		Espectrofotometria no ultravioleta	Espectrofotometria no visível
1	\bar{x}	95,69	95,78
	S	0,346890953	0,686844637
	n	10	10
2	\bar{x}	88,88	86,69
	S	0,454752680	0,459589189
	n	10	10
3	\bar{x}	101,15	100,27
	S	0,240115713	0,615051940
	n	10	10
4	\bar{x}	98,47	98,04
	S	0,701213234	0,582885542
	n	10	10
5	\bar{x}	100,24	100,34
	S	0,841143402	0,572518801
	n	10	10
6	\bar{x}	100,02	100,58
	S	0,234591844	0,432794537
	n	10	10
7	\bar{x}	100,02	100,42
	S	0,202017601	0,55903687
	n	10	10

\bar{x} = Média dos valores experimentais em %

S = Desvio padrão

n = Número de determinações

Tabela 7.2 - Resultados obtidos na comparação da exatidão dos métodos propostos

Amostra nº	Valor calculado de "t"
1	0,370*
2	10,711
3	4,215
4	1,491*
5	0,311*
6	3,597
7	2,129

Valores da tabela t de Student:

Para P=95% e 18 graus de liberdade, $t = 2,101$

*Valores não significativos.

Tabela 7.3 - Resultados obtidos na comparação da precisão dos métodos propostos

Amostra nº	Valor calculado de "F"
1	3,920*
2	1,021*
3	6,561
4	1,447*
5	2,158*
6	3,403*
7	7,657

Valores da tabela "F":

Para P=95% e 9/9 graus de liberdade, $F = 4,026$

*Valores não significativos.

8 - DISCUSSÃO

Os medicamentos contendo cloridrato de ranitidina são bastante comercializados no Brasil. Assim, tornou-se necessário colocar à disposição dos laboratórios de controle de qualidade de medicamentos uma metodologia mais barata e acessível que a CLAE, para a determinação deste fármaco.

No presente trabalho foram padronizados dois métodos espectrofotométricos, um no ultravioleta e outro no visível.

8.1 - ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA

O espectro de absorção do cloridrato de ranitidina no ultravioleta, em água destilada (figura 6.1), mostra dois máximos de absorção, um a 227 nm e outro a 313 nm.

A absorção máxima no menor comprimento de onda é devida, principalmente, ao cromóforo furano dissustituído, com uma contribuição do grupo nitro eteno diamino, que tem sua principal absorção no maior comprimento de onda (11).

8.1.1 - ESCOLHA DO COMPRIMENTO DE ONDA DE LEITURA

Um composto intermediário que se forma em um dos processos de síntese da ranitidina exibe máximos de absorção a 230 e 235 nm, com um ombro a 288 nm. Assim, a medida da absorção a 313 nm é mais conveniente para determinação quantitativa da ranitidina, mesmo na presença desta impureza (35).

Testes realizados no presente trabalho mostraram que a 313 nm, a absorção do cloridrato de ranitidina diminuiu com maior intensidade que a 227 nm, depois que este foi submetido a altas temperaturas (105°C) durante determinado tempo (72 h). Isto

sugere que a determinação do fármaco a 313 nm, em medicamentos que se encontram em processo de degradação influenciada por temperatura, forneceria resultados (em cloridrato de ranitidina íntegro) mais confiáveis que a 227 nm.

O cloridrato de ranitidina tem sua estabilidade diminuída em pH ácido (33).

Testes realizados no presente trabalho mostraram que à medida em que se diminuiu o pH de uma solução de cloridrato de ranitidina contendo 12 µg/mL, a absorção a 313 nm diminuiu com maior intensidade que a 227 nm. Isto sugere que a determinação do fármaco em preparações líquidas seria mais adequada a 313 nm, já que a degradação do mesmo, influenciada pelo abaixamento do pH, não poderia ser bem evidenciada a 227 nm.

Por todas as razões mostradas anteriormente, o método espectrofotométrico no ultravioleta foi padronizado a 313 nm.

8.1.2 - PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES

No presente trabalho estudou-se o comportamento no ultravioleta, de alguns medicamentos comercializados no Brasil, contendo cloridrato de ranitidina. Verificou-se que em todas as formulações estudadas, o fármaco poderia ser determinado, em água destilada e sem interferência dos excipientes, a 313 nm.

As figuras 6.4, 6.5, 6.7 e 6.9 mostram a semelhança entre os espectros das amostras comerciais e do padrão, na região em que o método foi padronizado.

As figuras 6.4, 6.6, 6.8 e 6.9 mostram os espectros das amostras simuladas, comparados com as respectivas amostras

comerciais, confirmando-se a semelhança entre elas (do ponto de vista da análise espectral no UV).

As figuras 6.4, 6.7 e 6.9 mostram os espectros dos placebos das amostras simuladas, sugerindo que os outros componentes (excipientes, veículos) que possuem absorção no ultravioleta, não interferem no método proposto. Os espectros das figuras 6.7 e 6.9 são devidos, principalmente, ao álcool benzílico e ao fenol, respectivamente.

8.2 - ESPECTROFOTOMETRIA NO VISÍVEL

Na revisão da literatura foram encontrados vários métodos de determinação do cloridrato de ranitidina através da espectrofotometria no visível com a utilização de diversos reativos. O cloridrato da hidrazona da 3-metil-2-benzotiazolinona (MBTH) foi o reativo que causou maior interesse, devido principalmente, às suas vastas possibilidades de aplicação na determinação de um elevado número de fármacos, já que reage, sob condições diferentes, com vários grupamentos químicos, o que lhe confere em muitos casos, características de seletividade.

O método espectrofotométrico no visível foi padronizado a partir do trabalho de RAO e equipe (61), desenvolvido para determinação de ranitidina em comprimidos. Apesar da reação proposta na citada referência reunir as principais características pretendidas no presente trabalho, foram necessárias algumas modificações importantes.

Na reação original, são utilizados 1,0 mL de solução de cloridrato de ranitidina (200 µg/mL), 2,0 mL de solução de MBTH a 0,20% e 5,0 mL de solução de cloreto férrico a 0,20%, preparadas em HCl 0,1 M.

No presente trabalho, foram utilizados 5,0 mL de solução de cloridrato de ranitidina (40 µg/mL), para que fosse possível a construção da curva de Ringbon e reta de calibração. Os volumes das soluções de MBTH e de cloreto férrico foram mantidos como no método original.

8.2.1 - DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO ÓTIMA DE MBTH E CLORETO FÉRRICO

Para se verificar se a concentração das soluções de MBTH e cloreto férrico utilizadas no trabalho original era a ideal, foram testadas várias concentrações do primeiro reagente, mantendo-se fixas as concentrações do segundo.

Como pode ser observado na figura 6.10, quando se utilizou cloreto férrico a 0,20%, à medida em que foram variadas as concentrações de MBTH, as absorvâncias do produto colorido aumentaram, obtendo-se leitura máxima quando a concentração deste reagente era de 0,20%. A partir desta concentração, as absorvâncias foram diminuindo progressivamente, o que sugere que o excesso de MBTH vai inibindo a reação, nesta concentração de cloreto férrico.

Assim, tornou-se necessário estudar o comportamento da reação com outras concentrações de cloreto férrico.

Com cloreto férrico a 0,30% foram obtidos resultados um pouco melhores que os anteriores, com estabilização da absorvância nas concentrações de 0,30 e 0,35% de MBTH.

Porém, os melhores resultados foram obtidos com cloreto férrico a 0,40%, quando foi obtida estabilização da absorvância nas concentrações de 0,30, 0,35 e 0,40% de MBTH, sugerindo maior estabilidade da reação.

Com cloreto férrico a 0,50 e 1,00%, além de não se obter estabilização da absorvância como aquela obtida a 0,40%, foi observado

um aumento da mesma, à medida em que foram aumentadas as concentrações de MBTH.

Assim, foram definidas as concentrações de 0,35% para a solução de MBTH e de 0,40% para a solução de cloreto férrico, consideradas ideais para a padronização do método.

8.2.2 - INFLUÊNCIA DO SOLVENTE

Alguns trabalhos mostram que as reações envolvendo o MBTH e o íon férrico ocorrem em meio aquoso ácido (clorídrico) (19, 20, 21, 22, 54, 55), em metanol (72, 73, 74, 77, 79) ou em água destilada (73).

A água destilada foi testada como solvente no presente trabalho; porém, não foram fornecidos resultados satisfatórios para a determinação quantitativa do cloridrato de ranitidina, como pode ser visto na tabela 6.6.

O metanol não foi testado como solvente, já que soluções de ácido clorídrico forneceram bons resultados. Como pode ser observado na tabela 6.6, a absorvância aumentou à medida em que foi aumentada a concentração de ácido clorídrico. A utilização do ácido clorídrico 0,01 M seria mais econômica; porém, optou-se pela utilização da solução de ácido clorídrico 0,1 M, para que se mantivessem as características iniciais da reação, quando da determinação da concentração ótima de MBTH e cloreto férrico.

8.2.3 - TEMPO NECESSÁRIO PARA A ESTABILIZAÇÃO DA REAÇÃO

Na determinação do tempo necessário para a estabilização da reação (figura 6.11), verificou-se um crescimento inicial rápido da absorvância (de zero a nove minutos, aproximadamen-

te), tornando-se mais lento, com tendência à estabilização a partir dos 27 minutos aproximadamente, sugerindo que este deve ser o tempo mínimo para que a reação seja completada.

8.2.4 - INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE ÁGUA

Algumas reações envolvendo o MBTH e o cloreto férrico foram efetuadas com adição de água destilada, trinta minutos após a adição deste oxidante (22, 54, 55).

Com o objetivo de se estudar o comportamento da reação após adição de água, completou-se o volume indicado com este solvente, logo após a adição de cloreto férrico e 30 minutos após a adição do mesmo. Pelos resultados obtidos (tabela 6.7), verifica-se interrupção do crescimento da absorbância, independente do tempo em que foi adicionada, sugerindo que a água inibe o desenvolvimento da reação.

Assim, a água deve ser utilizada para promover a estabilização da reação, decorridos trinta minutos da adição de cloreto férrico, fato que é necessário para que o método seja reprodutível e possa ser aplicado em determinações quantitativas. Convém lembrar que o tempo estabelecido para que a reação se complete seja respeitado igualmente, para cada determinação individual. Para isto, deve ser estabelecido um intervalo de tempo entre a adição do cloreto férrico nas amostras a serem analisadas, respeitando-se o mesmo intervalo para a adição da água (para completar o volume de cada amostra).

8.2.5 - TEMPO DE ESTABILIDADE DA REAÇÃO

Nas condições estabelecidas para o método a reação manteve-se estável após adição de água destilada, durante 120 minutos, no mínimo (figura 6.12); porém, é importante ressaltar

que é necessário utilizar reagentes de preparo recente, para que este fato possa ser reproduzido.

8.2.6 - ESPECTRO DE ABSORÇÃO DO PRODUTO COLORIDO FORMADO

Após a verificação dos principais fatores que afetam a reação e o estabelecimento das melhores condições para o desenvolvimento e estabilidade da mesma,* traçou-se o espectro de absorção do produto formado (de cor turquesa) - o qual possui absorção máxima a 615 nm - contra o branco (de cor amarela proveniente da solução de cloreto férrico e que possui absorção em região de comprimento de onda menor) (figura 6.14).

8.2.7 - MECANISMO E RELAÇÃO ESTEQUIOMÉTRICA

A maioria dos trabalhos que utilizaram MBTH na análise de medicamentos propõe mecanismos para as reações envolvidas através de analogias com outras reações anteriormente estudadas (18, 19, 20, 21, 22, 27, 62, 64, 73, 75, 76, 77). Não existem, na maioria dos casos, estudos mais profundos sobre a estrutura química dos produtos originados destas reações ou sobre as etapas envolvidas.

Não existe na literatura consultada nenhuma referência a mecanismos que envolvam MBTH e grupamentos químicos idênticos àqueles existentes na molécula do cloridrato de ranitidina, nas condições da reação proposta. Por este motivo, pela impossibilidade de se desenvolver os métodos analíticos necessários a este propósito, e além de não ser objetivo deste trabalho, não será feita qualquer sugestão de mecanismo para a reação. Entretanto, determinou-se a relação estequiométrica entre o cloridrato de ranitidina e o MBTH, o que poderá ser de grande auxílio a futuros estudos dos mecanismos envolvidos na reação. Segundo o método utilizado nesta determinação, obteve-se medida de

* A reação se processa à temperatura ambiente.

absorbância máxima para aquela solução proveniente de 2,0 mL de cloridrato de ranitidina e 8,0 mL de MBTH. Como as soluções possuíam a mesma concentração molar, a reação tem relação estequiométrica igual a 1:4 (cloridrato de ranitidina : MBTH)(fig.6.13).

8.2.8 - PESQUISA DE INTERFERÊNCIA A PARTIR DOS EXCIPIENTES

O método espectrofotométrico no visível demonstrou ser aplicável à quantificação do cloridrato de ranitidina nas amostras analisadas, sob o aspecto da ausência de interferência a partir de excipientes/veículos das mesmas.

As figuras 6.17, 6.18, 6.19 e 6.20 mostram que as amostras, quando submetidas à reação, fornecem espectros de absorção com as mesmas características do padrão, independente da observação visual (semelhança de cor entre padrão e amostras 1, 3, 4, 5, 6 e 7, e ligeira diferença entre padrão e amostra 2).

Para o estudo dos interferentes foram submetidos à reação os placebos das amostras simuladas. Foram obtidas respostas visuais totalmente diferentes daquelas observadas para o padrão e para as amostras; as cores obtidas foram muito próximas à cor do branco da reação. Isto é confirmado pelas figuras 6.17, 6.18 e 6.19, as quais mostram que os espectros de absorção a partir dos placebos têm seus máximos em regiões diferentes da região de absorção máxima do padrão e das amostras. A insignificante coloração desenvolvida pelos placebos não interferiu na determinação do teor de cloridrato de ranitidina nas amostras analisadas.

Foram realizados testes com cada componente das amostras simuladas, com o objetivo de estudar sua resposta ao método. Nenhum excipiente do comprimido reagiu com o MBTH, nas condições propostas. Outros excipientes normalmente utilizados na formulação de comprimidos (como explosol, talco, metil e etilcelulose) foram testados e não interferiram no método pro-

posto. O mesmo foi observado para os componentes das formulações injetáveis; nestas, os conservantes foram objeto de maiores estudos. Para o álcool benzílico nenhuma reação com o MBTH foi encontrada na literatura consultada.

Produtos coloridos foram obtidos da reação de vários fenóis e o MBTH, em presença de sulfato cérico amoniacal e meio ácido (sulfúrico). A maioria dos fenóis reagiu nestas condições, independente do tipo e posição do grupo substituinte presente, apesar da presença de um grupo eletronegativo na posição para ter dificultado o desenvolvimento de coloração. A reta de calibração foi obtida na faixa de concentração de 6 a 25 μg de fenol/mL, aproximadamente (84).

Sulfato de terbutalina e sulfato de orciprenalina foram determinados em comprimidos, injetáveis e xarope, através da reação com MBTH a 0,25% e cloreto férrico a 1%, em meio ácido (clorídrico). O produto colorido obtido foi medido a 478 nm e o mecanismo da reação foi atribuído aos grupamentos fenólicos existentes nas moléculas destes fármacos. A concentração de leitura foi 8 $\mu\text{g/mL}$ (22).

No presente trabalho foi pesquisada a interferência do fenol adicionado como conservante da amostra 7, na concentração de leitura da mesma (0,5 μg de fenol/mL). Nas condições propostas pelo método, esta concentração de fenol forneceu cor muito próxima à do branco da reação e não interferiu na determinação do cloridrato de ranitidina.

8.3 - CURVAS DE RINGBOM E RETAS DE CALIBRAÇÃO

As curvas de Ringbon obtidas pelos dois métodos propostos forneceram os intervalos de concentração em que a lei de Beer foi obedecida e com os quais foram construídas as retas de calibração. Como pode ser visto nas figuras 6.2 e 6.3 o método

espectrofotométrico no ultravioleta possui linearidade entre concentração e absorvância na faixa de 5,0 a 18,0 $\mu\text{g/mL}$.

O método espectrofotométrico no visível possui linearidade entre concentração e absorvância na faixa de 1,44 a 5,76 $\mu\text{g/mL}$ (figuras 6.15 e 6.16).

Como pode ser observado, o método espectrofotométrico no visível apresentou maior sensibilidade que o método espectrofotométrico no ultravioleta.

8.4 - APLICAÇÃO DOS MÉTODOS NA DETERMINAÇÃO DO TEOR DE CLORIDRATO DE RANITIDINA A AMOSTRAS COMERCIAIS E SIMULADAS

O coeficiente de variação (tabelas 6.4 e 6.11), relacionado à precisão dos resultados obtidos experimentalmente sob as condições estabelecidas (85, 88), foi calculado para cada amostra, empregando-se os resultados de dez determinações.

Os testes de recuperação, relacionados à exatidão dos valores obtidos (85), foram efetuados segundo a recomendação da "Association of Official Analytical Chemists" (AOAC) (2). Os resultados obtidos nos testes de recuperação (tabelas 6.5 e 6.12) foram satisfatórios.

Os limites estabelecidos pela Farmacopéia Americana XXII para o teor de ranitidina em comprimidos e injetáveis são, no mínimo 90% e no máximo 110% do valor rotulado (85). Os resultados obtidos através dos dois métodos propostos no presente trabalho foram satisfatórios para as amostras analisadas, com exceção da amostra 2 (tabelas 6.3 e 6.10).

8.5 - COMPARAÇÃO DA EXATIDÃO E PRECISÃO DOS DOIS MÉTODOS

Pela forma em que foi realizada a análise estatísti-

ca, não se pode afirmar que um método é mais exato ou mais preciso que o outro, apenas se eles diferem significativamente ou não, em determinado nível (P).

A um nível de significância $P = 95\%$, a comparação da exatidão dos dois métodos (tabela 7.2) mostrou que os métodos não diferem significativamente para as amostras 1, 4 e 5. As outras amostras, cujos resultados mostraram diferenças significantes ao nível considerado não o são a níveis mais elevados de significância; porém a amostra 2 apresentou uma diferença de 2,19% entre as médias obtidas pelos dois métodos, fornecendo um alto valor de t ; Esta amostra apresenta evidentes sinais de degradação e a forte coloração apresentada fez com que houvesse ligeira diferença na comparação visual com o padrão, apesar de não se verificar diferença entre os espectros (figura 6.18). Por este motivo, a aplicação do método espectrofotométrico no visível pode ser considerado menos adequado que o método ultravioleta, para esta amostra em particular, nas condições de conservação da mesma.

Na comparação da precisão dos métodos propostos (tabela 7.3) pode-se observar que os métodos diferem significativamente (para $P = 95\%$) apenas para as amostras 3 e 7; porém, a níveis mais elevados, estes valores deixam de ser significantes. Na tabela 7.1 pode ser verificado que os desvios (S) são maiores para o método espectrofotométrico no visível (para as amostras 1, 2, 3, 6 e 7); isto pode ser atribuído ao fato da precisão diminuir com o decréscimo da concentração (43), já que a faixa de linearidade deste método compreende menores valores que o método espectrofotométrico no ultravioleta.

Quando analisados em conjunto os resultados mostram que os dois métodos são compatíveis quanto à exatidão e precisão para as amostras que se encontram em bom estado de conservação.

Pretendia-se fazer a comparação entre os dois métodos propostos e o método oficial da Farmacopéia Americana XXII,

mas isto não foi possível por falta de condições técnicas.

9 - CONCLUSÕES

Pelos dados experimentais obtidos e nas condições em que foi realizado o trabalho, pode-se concluir que:

1 - O cloridrato de ranitidina pode ser determinado quantitativamente por Espectrofotometria no ultravioleta, no intervalo de concentração de 5,0 a 18,0 $\mu\text{g/mL}$.

2 - O cloridrato de ranitidina pode ser determinado quantitativamente por Espectrofotometria no visível, pela reação com o cloridrato da hidrazona da 3-metil-2-benzotiazolinona (MBTH) a 0,35% em HCl 0,1M e cloreto férrico a 0,40% em HCl 0,1M, no intervalo de concentração de 1,44 a 5,76 $\mu\text{g/mL}$.

3 - Os métodos propostos podem ser empregados na análise quantitativa do cloridrato de ranitidina em medicamentos comercializados no Brasil.

4 - Os testes de recuperação efetuados apresentaram resultados que comprovaram a eficiência dos métodos utilizados.

5 - Os medicamentos testados não apresentaram interferência de excipientes em nenhum dos métodos propostos.

6 - Os métodos espectrofotométricos propostos para a determinação do cloridrato de ranitidina em medicamentos podem ser utilizados como uma alternativa econômica, rápida e simples.

7 - Os resultados da análise comparativa da exatidão e precisão dos dois métodos foram compatíveis para todas as amostras que se encontravam em bom estado de conservação.

10 - PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

O desenvolvimento de metodologia analítica para determinação do cloridrato de ranitidina em medicamentos, principalmente voltada para estudos de estabilidade do fármaco, constitui área de grande importância, dado o número de fatores que influenciam na estabilidade do mesmo, como luz, temperatura e pH, por exemplo.

De outro lado, o cloridrato da hidrazona da 3-metil-2-benzotiazolinona (MBTH) é um reagente que oferece um amplo espectro de aplicações na determinação de fármacos em medicamentos.

Geralmente os métodos espectrofotométricos desenvolvidos com este reagente, são rápidos e de fácil execução. Devido ao fato de suas reações fornecerem produtos coloridos diferentes frente a oxidantes distintos, os métodos desenvolvidos com a utilização de MBTH, possuem, em muitos casos, características de seletividade, o que possibilitará sua aplicação na análise de fármacos em associações farmacêuticas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- 1 - ABU ZUHRI, A.Z.; HANNOUN, M.; AL KHALIL, S.; HASNA, H. - Polarographic assay of ranitidine drugs in pharmaceutical formulation. Anal. Lett., New York, 21(10): 1845-53, 1988.
- 2 - ASSOCIATION OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis, 15.ed., Arlington, 1990. v.1, p.xxii.
- 3 - ATKOSAR, Z.& TUNCEL, M. - The potentiometric determination of ranitidine hydrochloride. Acta Pharm. Turc., Istanbul, 31(4): 139-42, 1989.
- 4 - BEALIEU, N.; LACROIX, P.M.; SEAR, R.W.; LOVERING, E.G. - High-performance liquid chromatographic methods for the determination of ranitidine and related substances in raw materials and tablets. J. Pharm. Sci., Washington, 77(10): 889-92, 1988.
- 5 - BESTHORN, E. - Über derivate des benzthiazols. Ber. Dtsch. Chem. Ges., Berlin, 43: 1519-26, 1910.
- 6 - BULLOK, L.; PARKS, R.B.; LAMPASONA, V.; MULLINS, R.E. - Stability of ranitidine hydrochloride and amino acids in parenteral nutrient solutions. Am. J. Hosp. Pharm., Washington, 42: 2683-7, 1985.

* De acordo com a norma NB66/78 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI) 1990.

- 7 - CANO, S.M.; MONTORO, J.B.; PASTOR, C.; POU, L.; SABIN, P. - Stability of ranitidine hydrochloride in total nutrient admixtures. Am. J. Hosp. Pharm., Washington, 45(5): 1100-2, 1988.
- 8 - CAREY, P.F.; MARTIN, L.E.; EVANS, M.B. - High - performance liquid chromatographic methods for the determination of ranitidine and its metabolites in biological fluids. Chromatographia, Braunschweig, 19: 200-5, 1984.
- 9 - CAREY, P.F.; MARTIN, L.E.; OWEN, P.E. - Determination of ranitidine and its metabolites in human urine by reversed-phase ion-pair high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr., Amsterdam, 225: 161-8, 1981.
- 10 - CHATTARAJ, S.C.; DAS, S.K.; GUPTA, B.K. - Spectrophotometric determination of ranitidine hydrochloride. Indian Drugs, 26(7): 365-7, 1989. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 111: 140640u, 1989.
- 11 - CHORLETON, T.J.; HUNT, J.H.; KLINKERT, G.; MARTIN-SMITH, M.- Spectroscopic studies on ranitidine - Its structure and the influence of temperature and pH. J. Chem. Soc. Perkin Trans II. London, 11: 1761-6, 1984.
- 12 - DALY, M.J. - Ranitidine - A novel H_2 -receptor antagonist. Med. Actual., Barcelona, 18(11): 615-9, 1982.
- 13 - DAS GUPTA, V. - Quantitation of ranitidine hydrochloride in tablets and injection using high-performance liquid chromatography. Drug Dev. Ind. Pharm., 14(12): 1647-55, 1988. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 109: 197287x, 1988.

- 14 - DAVIS, R.B.; THOMPSON, J.E.; PARDUE, H.L. - Characteristics of statistical parameters used to interpret least-square results. Clin. Chem., Winston Salem, 24(4): 611-20, 1978.
- 15 - DELGADO ZAMARREÑO, M.; HERNANDEZ MENDEZ, J.; SANCHEZ PEREZ, A. - Electrochemical study and polarographic determination of ranitidine. Anál. Chim. Acta, Amsterdam, 176: 279-84, 1985.
- 16 - DICIONÁRIO de especialidades farmacêuticas. 20.ed., Rio de Janeiro, Publicações Científicas, 1991/1992.
- 17 - DRUGS evaluations annual 1991. Milwaukee, American Medical Association, 1990. p.763-75.
- 18 - EL-KOMMOS, M.E. - Spectrophotometric determination of dobutamine hydrochloride using 3-methylbenzothiazolin-2-one hydrazone. Analyst, London, 112(1): 101-3, 1987.
- 19 - EL-KOMMOS, M.E. & EMARA, k.M. - Application of 3-methylbenzothiazolin-2-one hydrazone as a chromogenic reagent for the spectrophotometric determination of certain sulphadiazine drugs. Analyst, London, 113(1): 133-7, 1988.
- 20 - EL-KOMMOS, M.E. & EMARA, K.M. - Spectrophotometric determination of certain local anaesthetics using 3-methylbenzothiazolin-2-one hydrazone. Analyst, London, 112(9): 1253-6, 1987.
- 21 - EL-KOMMOS, M.E. & EMARA, K.M. - Spectrophotometric determination of some phenothiazine drugs using 3-methylbenzothiazolin-2-one hydrazone. Analyst, London, 113(8): 1267-71, 1988.

- 22 - EL-YASBI, F.A.; ABDEL-HAY, M.H.; KORANY, M.A. - Spectrophotometric, fluorometric and colorimetric determination of terbutaline sulphate and orciprenaline sulphate. Farmaco Ed. Prat., Pavia, 40(2): 50-7, 1985.
- 23 - EMMANUEL, J. & HALDANKAR, S.D. - A simple and sensitive spectrophotometric method for the estimation of ranitidine hydrochloride and its formulations. Indian Drugs, 26(5): 249-50, 1989. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 110: 179630v, 1989.
- 24 - GALANTE, L.J.; STEWART, J.T.; WARREN, F.W.; EDGAR, J.W.; HUFF, A.J. - Stability of ranitidine hydrochloride with eight medications in intravenous admixtures. Am. J. Hosp. Pharm., Washington, 47(7): 1606-10, 1990.
- 25 - GALANTE, L.J.; STEWART, J.T.; WARREN, F.W.; JOHNSON, S.M.; DUNCAN, R. - Stability of ranitidine hydrochloride at dilute concentration in intravenous infusion fluids at room temperature. Am. J. Hosp. Pharm., Washington, 47(7): 1580-4, 1990.
- 26 - GANGULY, S.K. & GHOSH, K. - Estimation of ranitidine in pharmaceutical preparations. East. Pharm., New Delhi, 29(348): 151, 1986.
- 27 - GEETA, N. & BAGGI, T.R. - A new spectrophotometric method for the determination of free salicylic acid in aspirin and its formulations based on oxidative coupling of 3-methylbenzthiazolinone-2-hydrazone with salicylic acid. Microchem. J., New York, 38(2): 236-40, 1988.

- 28 - GOODMAN, L.S. & GILMAN, A. - The pharmacological basis of therapeutics. 8 ed. New York, Pergamon Press, 1990. p. 897-902.
- 29 - GRANT, S.M.; LANGTRY, H.D.; BROGDEN, R.N. - Ranitidine. An updated review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in peptic ulcer disease and other allied diseases. Drugs, Auckland, 37(6) : 801-70, 1989.
- 30 - GUIISO, G.; FRACASSO, C.; CACCIA, S.; ABBIATI, A. - Determination of ranitidine in rat plasma and brain by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr., Amsterdam, 413: 363-9, 1987.
- 31 - GUVENER, B. - Spectrophotometric determination method of ranitidine hydrochloride. Acta Pharm. Turc., Istanbul, 28 (1): 35-7, 1986.
- 32 - HARAGUCHI, T. & KOROLKOVAS, A. - Doseamento do cloridrato de ranitidina com ácido perclórico em meio não aquoso. Rev. Farm. Bioquim. Univ. S. Paulo, São Paulo, 21(2) : 146-50, 1985.
- 33 - HAYWOOD, P.A.; MARTIN-SMITH, M.; CHORLETON, T.J.; EVANS, M. B. - Isolation and identification of the hydrolytic degradation products of ranitidine hydrochloride. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, London, (5): 951-4, 1987.
- 34 - HOHNJEC, M.; KUFTINEC, J.; MALNAR, M.; SKREBLIN, M.; KAJFEZ, F.; NAGL, A.; BLAZEVIC, N. - Ranitidine. Anal. Profiles Drug Subst., New York, 15: 533-61, 1986.

- 35 - HOHNJEC, M.; RENDIC, S.; ALEBIC-KOLBAH, T.; KAJFEZ, F.; BEAZEVIC, N.; KUFTINEC, J. - Physical and spectroscopic data of ranitidine. Acta Pharm. Jugosl., Zagreb, 31: 131-42, 1981.
- 36 - JOB, P. - Recherches sur la formation de complexes minéraux en solution, et sur leur stabilité. Ann. Chim., Paris, 10 (9): 113-203, 1928.
- 37 - KAKA, J.S. - Rapid method for cimetidine and ranitidine determination in human and rat plasma by HPLC. J. Liq. Chromatogr., 11(16): 3447-56, 1988. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 110: 224885v, 1989.
- 38 - KARNES, H.T.; OPONG-MENSAH, K.; FARTHING, D.; BEIGHTOL, L. A. - Automated solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic determination of ranitidine from urine, plasma and peritoneal dialysate. J. Chromatogr., Amsterdam, 422: 165-73, 1987.
- 39 - KOK, W.T.; HALYAX, J.J.; VOOGT, W.H.; BRINKMAN, U. A. T.; FREI, R. W. - Detection of thioethers of pharmaceutical importance by liquid chromatography with on-line generated bromine. Anal. Chem., Washington, 57(13): 2580-3, 1985.
- 40 - LAMPASONA, V.; MULLINS, R.E.; PARKS, R.B. - Stability of ranitidine admixtures frozen and refrigerated in mini-bags. Am. J. Hosp. Pharm., Washington, 43: 921-5, 1986.
- 41 - LANGMAN, M.J.S. - Histamine H₂ antagonists. Med. Actual., Barcelona, 16(11): 393-402, 1980.

- 42 - MARTIN, L.E.; OXFORD, J.; TANNER, R.J.N. - Use of high-performance liquid chromatography-mass spectrometry for the study of metabolism of ranitidine in man. J.Chromatogr., Amsterdam, 251: 215-24, 1982.
- 43 - MARTIN-SMITH, M. & RUDD, D.R. - The importance of proper validation of the analytical methods employed in the quality control of pharmaceuticals. Acta Pharm. Jugosl., Zagreb, 40(1-2): 7-19, 1990.
- 44 - MARTINDALE, W.H.- The extra pharmacopeia. 29.ed., London, Pharmaceutical Press, 1989. p.1104-5.
- 45 - MERCK index - 11.ed., Rahway, 1989. p.1291.
- 46 - MIHALY, G.W.; DRUMMER, O.H.; MARSHALL, A.; SMALLWOOD, R.A.; LOUIS, W.J. - High-pressure liquid chromatographic determination of ranitidine, a new H₂-receptor antagonist, in plasma and urine. J. Pharm. Sci., Washington, 69(10) : 1155-7, 1980.
- 47 - MILLER, J.C. & MILLER, J.N. - Statistics for analytical chemistry. 2.ed. Chichester, Ellis Horwood, 1988. p.53-62, 216-23.
- 48 - MITSANA-PAPAZOGLU, A.; DIAMANDIS, E.P.; HADJIIOANNOU, T.P.- Ion-selective electrodes for the H₂-receptor antagonists cimetidine and ranitidine. J. Pharm. Sci., Washington, 76(6): 485-91, 1987.

- 49 - MULLERSMAN, G. & DERENDORF, H. - Rapid analysis of ranitidine in biological fluids and determination of its erythrocyte partitioning. J. Chromatogr., Amsterdam, 381: 385-91, 1986.
- 50 - NALIMOV, U.V. - The application of mathematical statistics to chemical analysis. Oxford, Pergamon Press, 1963. p . 100-3.
- 51 - OHLWEILER, O.A. - Química analítica quantitativa. Rio de Janeiro, Livros Técnicos e Científicos, 1974. v.1, p. 265-303.
- 52 - OZSOY, Y. & GUVENER, B. - Spectrophotometric determination method of ranitidine hydrochloride in tablets. Acta Pharm. Turc., Istanbul, 29(1): 13-6, 1987.
- 53 - PATEL, R.B.; GANDHI, T.P.; PATEL, U.C.; PATEL, S.K.; GILBERT, R.N. - Colorimetric estimation of ranitidine hydrochloride in bulk and dosage form. Indian J. Pharm. Sci., 45(3): 130-1, 1983. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 100: 91478j , 1984.
- 54 - PAYS, M.; BOURDON, R.; BELJEAN, M. - Diazocopulation des amines et des heterocycles azotes a l'aide du reactif HMBT. Anal. Chim. Acta, Amsterdam, 47: 101-11, 1969.
- 55 - PAYS, M.; MALANGEAU, P.; BOURDON, R. - Dosage colorimétrique de divers aldéhydes en présence de l'hydrazone de la 3 - méthylbenzothiazoline-2-one. Ann. Pharm. Fr., Paris, 24 (12): 763-8, 1966.

- 56 - PRICE, B.J.; CLITHEROW, J.W.; BRADSHAW, J. - Pharmaceutical alkylfuran derivatives. Ger. Offen. 2, 734,070, 1978, 83 p. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 88: 190580b, 1978.
- 57 - PRUEKSARITANONT, T.; SITTICHAJ, N.; PRUEKSARITANONT, S . ; VONGSAROJ, R. - Simultaneous determination of ranitidine and its metabolites in human plasma and urine by high - performance liquid chromatography. J. Chromatogr., Amsterdam, 490(1): 175- 85, 1989.
- 58 - RADULOVIC, D.; PECANAC, D.; KAPETANOVIC, M. - Spectrophotometric determination of ranitidine with bromocresol green and bromophenol blue. Arch. Farm., 40(3): 71-5 , 1990. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 114: 129233e, 1991.
- 59 - RAHMAN, A.; HOFFMAN, N. E.; RUSTUM, A.M. - Determination of ranitidine in plasma by high-performance liquid chromatography . J. Pharm. Biomed. Anal., Oxford, 7(6):747 53, 1989.
- 60 - RAO, E.V.; RAO, G.R.; RAO, P.I.; MURTY, S.S.N. -Colorimetric determination of ranitidine in tablets. East. Pharm., New Delhi, 30(354): 135-6, 1987.
- 61 - RAO, E.V.; RAO, P.J.; MURTY, S.S.N.; RAO, G.R. -Colorimetric determination of ranitidine in tablets. Indian J. Pharm. Sci., Bombay, 49(4): 143-4, 1987.
- 62 - RAO, G.R.; AVADHANULU, A.B.; GIRIDHAR, R. - Spectrophotometric determination of guaiphenesin in formulations using 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride. East. Pharm., New Delhi, 31(367): 141-2, 1988.

- 63 - RAO, G.R.; AVADHANULU, A.B.; VATSA, D.K. - Spectrophotometric estimation of ranitidine hydrochloride in its pharmaceutical dosage forms. Indian Drugs, 27(2): 135-6, 1989. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 112: 42743f, 1990.
- 64 - RAO, G.R.; MURTY, S.S.N.; RAJU, I.R.K. - Spectrophotometric determination of sulphalene in dosage forms. East.Pharm., New Delhi, 32(381): 141-2, 1989.
- 65 - RAUT, K.N. & SABNIS, S.D. - New spectrophotometric method for estimation of ranitidine hydrochloride. Indian J. Pharm. Sci., 49(2): 65-6, 1987. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 107: 161781y, 1987.
- 66 - REMINGTON'S pharmaceutical sciences. 18.ed. Easton, Mack, 1990. p. 778-82, 104-37.
- 67 - RUSTUM, A.M. - Rapid and sensitive HPLC determination of ranitidine in plasma. Application to pharmacokinetics study. J. Liq. Chromatogr., 11(11): 2315-35, 1988. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 110: 50631s, 1989.
- 68 - RUSTUM, A.M.; RAUHMANN, A.; HOFFMAN, N.E. - High-performance liquid chromatographic determination of ranitidine in whole blood and plasma by using a short polymeric column. J. Chromatogr., Amsterdam, 421(2): 418-24, 1987.
- 69 - SADANA, G.S.; SANE, R.T.; OZARKAR, S.G.; SAPRE, D.S.; NAYAK, Y.G. - Extractive spectrophotometric method for the determination of ranitidine hydrochloride from pharmaceutical preparations. Indian Drugs, 23(10): 573-4, 1986. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 106: 9478b, 1987.

- 70 - SALEM, M.S.; GHARAIBEH, A.M.; ALKAYSI, H.N.; BADWAN, A -
High-performance liquid chromatographic analysis of ranitidine in plasma and urine. J. Clin. Pharm. Ther., 13 (5): 351-7, 1988. Apud: Chem. Abstr., Columbus, 110: 174z, 1989.
- 71 - SANKAR, P.S. & REDDY, S.J. - Voltametric analysis of ranitidine. Indian J. Pharm. Sci., 51(6): 263-4, 1989. Apud : Chem. Abstr., Columbus, 113: 46377h, 1990.
- 72 - SASTRY, C.S.P. & ARUNA, M. - Spectrophotometric determination of some anthelmintics and antiamebic agents with 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride. Pharmazie, Berlin, 43(5): 361, 1988.
- 73 - SASTRY, C.S.P.; PRASAD, T.N.V.; SASTRY, B.S.; RAO, E.V. - Spectrophotometric methods for the determination of some diuretics using 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone. Analyst, London, 113(2): 255-8, 1988.
- 74 - SASTRY, C.S.P. & RAO, A.R. - Spectrophotometric determination of some analgesic and anti-inflammatory agents with 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride. Mikrochim. Acta, Wien, 1(3-4): 237-44, 1989.
- 75 - SASTRY, C.S.P.; RAO, A.R.M.; PRASAD, T.N.V. - Spectrophotometric analysis of diclofenac sodium and piroxicam and their pharmaceutical preparations. Anal. Lett., New York, 20(2): 349-59, 1987.

- 76 - SASTRY, C.S.P.; SINGH, N.R.; REDDY, M.N. - New spectrophotometric methods for the determination of Riboflavin. Analusis, Paris, 14 (7): 355-6, 1986.
- 77 - SASTRY, C.S.P.; SINGH, N.R.; REDDY, M.N.; SANKAR, D.G.-Spectrophotometric determination of menadione and menadione sodium bisulfite in pharmaceutical preparations. Int. J. Pharm., Amsterdam, 39(1-2): 137-40, 1987.
- 78 - SAWICK, E.; HAUSER, T.R.; STANLEY, T.W.; ELBERT, W. - The 3-methyl-2-benzothiazolone hydrazone test. Sensitive new methods for the detection, rapid estimation, and determination of aliphatic aldehydes. Anal. Chem., Washington, 33(1): 93-6, 1961.
- 79 - SAWICK, E.; STANLEY, T.W.; HAUSER, T.R.; ELBERT, W.; NOE, J.L. - Spot test detection and colorimetric determination of aromatic amines and imino heteroaromatic compounds with 3-methyl-2-benzothiazolone hidrazone. Anal. Chem., Washington, 33(6): 722-5, 1961.
- 80 - SEGELMAN, A.B.; ADUSUMALLI, V.E.; SEGELMAN, F.H. -Automated liquid chromatographic determination of ranitidine in microliter samples of rat plasma. J. Chromatogr., Amsterdam, 535: 287-92, 1990.
- 81 - SKOOG, D.A.; WEST, D.M.; HOLLER, F.J. - Fundamentals of analytical chemistry. 5. ed. New York, Saunders College, 1988. p.35-9.

- 82 - SQUELLA, J.A.; ZUÑIGA, L.A.; LEMUS, I.; NUÑEZ-VERGARA, L.J.-
Simple determination of ranitidine in dosage forms by in-
-phase selective a.c. polarography. J. Assoc. Off. Anal.
Chem., Washington, 71(2): 388-90, 1988.
- 83 - STANCZAK, W. - Polarographic studies of some H₂-blocking a-
gents. I. Polarographic studies of ranitidine. Acta Pol.
Pharm., Warsaw, 44(5): 446-51, 1987.
- 84 - UMEDA, M. - Color reaction of phenols. III. Color reaction
of phenols with 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone
and cerium ammonium sulphate and its application to
colorimetric determination of phenol. Yakugaku Zasshi,
Tokyo, 83: 951-6, 1963.
- 85 - UNITED States pharmacopeia, 22. ed. Rockville, United
States Pharmacopeial Convention, 1989. p. 1208-11, 1711-
2.
- 86 - WALKER, S. E. & BAYLIFF, C.D. - Stability of ranitidine
hydrochloride in total parenteral nutrient solution. Am.
J. Hosp. Pharm., Washington, 42: 590-2, 1985.
- 87 - WILLIAMS, M.F.; HAK, L.J.; DUKES, G. - In vitro evaluation
of the stability of ranitidine hydrochloride in total nu-
trient mixtures. Am. J. Hosp. Pharm., Washington, 47(7):
1574-9, 1990.
- 88 - WILSON, A.L. - The performance-characteristics of analytical
methods - I. Talanta, London, 17: 21-9, 1970.
- 89 - ZANINI, A.C. & OGA, S. - Farmacologia aplicada. 4. ed. São
Paulo, Atheneu, 1989. p.395-6.

RESUMO

O cloridrato de ranitidina, um antagonista dos receptores H_2 da histamina, foi determinado em comprimidos e injetáveis por espectrofotometria no ultravioleta, a 313nm, e por espectrofotometria no visível, a 615nm, utilizando o cloridrato da hidrazona da 3-metil-2-benzotiazolinona (MBTH) a 0,35% em HCl 0,1M e cloreto férrico a 0,40% em HCl 0,1M, como reagentes de cor.

Na espectrofotometria no ultravioleta a lei de Beer foi obedecida no intervalo de concentração de 5,0 a 18,0 $\mu\text{g/mL}$. Quatro amostras comerciais foram analisadas. Os coeficientes de variação foram 0,36% e 0,71% para comprimidos, e 0,51% e 0,24% para injetáveis. A média de recuperação foi 99,88%.

Na espectrofotometria no visível a lei de Beer foi obedecida no intervalo de concentração de 1,44 a 5,76 $\mu\text{g/mL}$. Os coeficientes de variação foram 0,72% e 0,59% para comprimidos, e 0,53% e 0,61% para injetáveis. A média de recuperação foi 99,39%.

Os resultados foram comparados estatisticamente e foram compatíveis para as amostras que se encontravam em bom estado de conservação.

SUMMARY

Ranitidine hydrochloride, a histamine H_2 -receptor antagonist, was determined in tablets and injections by ultraviolet spectrophotometry at 313nm, and visible spectrophotometry using as color reagent 0,35% 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrochloride in HCl 0,1M and 0,40% ferric chloride in HCl 0,1M.

In ultraviolet spectrophotometry, Beer's law was obeyed in the range of concentration from 5,0 to 18,0 $\mu\text{g/mL}$. Four commercially available were analyzed. The coefficients of variation were 0,36% and 0,71% for tablets, and 0,51% and 0,24% for injections. The recovery average was 99,88%.

In visible spectrophotometry, Beer's law was obeyed in the range of concentration from 1,44 to 5,76 $\mu\text{g/mL}$. The coefficients of variation were 0,72% and 0,59% for tablets, and 0,53% and 0,61% for injections. The recovery average was 99,39%.

The results obtained by using the two methods were statistically compared and were compatible when samples were kept in good conditions of storage.