

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Recebido em 25/05/01
fida
NÃO LIA!

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-graduação em Fármaco e Medicamentos

Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA A
DETERMINAÇÃO DE CETIRIZINA EM PREPARAÇÕES
FARMACÊUTICAS**

IXIS IVETTE TAYMES HIDALGO

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:

Prof^a. Titular Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann

SÃO PAULO
2001

16.758

DEDALUS - Acervo - CQ



30100003790

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Taymes Hidalgo, Ixis Ivette
T247d Desenvolvimento de metodologia para a determinação
de cetirizina em preparações farmacêuticas / Ixis Ivette
Taymes Hidalgo. -- São Paulo, 2001.
107p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências
Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento
de Farmácia.

Orientador: Kedor-Hackmann, Erika Rosa Maria

I. Medicamento : Controle de qualidade I. T. II.
Kedor-Hackmann, Erika Rosa Maria, orientador.

615.19015 CDD

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

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA A
DETERMINAÇÃO DE CETIRIZINA EM PREPARAÇÕES
FARMACÊUTICAS**

IXIS IVETTE TAYMES HIDALGO

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora:
Prof^a. Titular Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann

SÃO PAULO
2001

IXIS IVETTE TAYMES HIDALGO

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA PARA A
DETERMINAÇÃO DE CETIRIZINA EM PREPARAÇÕES
FARMACÊUTICAS**

Comissão Julgadora

**Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE**

**Profa. Titular Erika Rosa Maria Kedor – Hackmann
Orientadora/ Presidente**

**Profa. Dra. Vladi Olga Consiglieri
1º. Examinador**

**Profa. Dra. Elizabeth Aparecida Dos Santos Gianoto
2º. Examinador**

São Paulo, 2 de fevereiro de 2001.

*DEUS é nosso refúgio e fortaleza,
socorro bem presente nas tribulações.
Por tanto não temeremos ainda que
a terra se transtorne, e os montes se abalem
no seio dos mares.*

Salmos 46:1-2

*Aos meus pais Miguel e Yolanda
Aos meus irmãos Miguel e Joel
Aos meus avós Eumelio e Rosa
que em todo momento me apoiam.*

*À Profa. Erika Rosa Maria Kedor – Hackmann
que aceitou a minha orientação, e que desde aquele
momento me há incentivado e apoiado.*

AGRADECIMENTOS

À Família Alvarado (Laboratorios Prieto S.A.) que tem depositado sua confiança no meu potencial de trabalho.

À Profa. Maria Amelia Barata da Silveira, pelo seu apoio possibilitando a entrada neste curso, suas sugestões e correções.

À Profa. María Inés R.M. Santoro, pela atenção e apoio.

Ao Prof. Jorge Luis S. Martins pelas correções e amizade e ao Prof. João Magalhães pelo incentivo.

À Profa. Vladi Olga Consiglieri pelo apoio, sugestões e correções.

À Profa. Elizabeth Gianoto dos Santos e à Profa. Eliane Maria de Almeida Orsine pelas sugestões e correções.

À minha colega Elizângela Abreu Dutra, um agradecimento especial, pelo seu apoio e amizade.

Aos meus colegas do departamento: Anil K. Singh, Martin Steppe, Fátima C. Silva, Andreia C. Peraro, María Aurora Prado e Najila M. Kassab, pelas sugestões, auxílio e amizade brindada em todo momento.

Ao Dr. Palacios e Ana Maria (Almapal S. A.) pela ajuda na preparação das amostras.

Às funcionárias Iria R. da Silva, Regina M. Rojas e Luzanira pela colaboração e amizade.

À minha amiga Yara Aguilar, pelo apoio em todo momento.

À Susana, Flavia e Yasmine pela ajuda e amizade.

À funcionária Claudinéia pelo fornecimento das matérias primas.

Aos Laboratórios Americhem S.A. pelo auxílio bibliográfico e aos Laboratórios Abbott do Brasil e Ucifarma Ltda. pelo fornecimento de matérias primas.

Às funcionárias Leila A. Bonadio e Adriana de Almeida Barreiros, da biblioteca do conjunto das químicas pelo auxílio e correções das referências bibliográficas.

A todos que de alguma forma, colaboraram para realização deste trabalho.

RESUMO

A espectrofotometria ultravioleta direta e derivada foi utilizada para o doseamento do dicloridrato de cetirizina em preparações farmacêuticas. Após identificação do dicloridrato de cetirizina de acordo com a Farmacopéia Européia 3^a ed.(1996), foi obtida a curva de Ringbom a 231nm utilizando soluções de cetirizina em ácido clorídrico 0,1N. A curva de calibração foi construída utilizando concentrações entre 6,0 e 24,0µg/mL, calculando-se o coeficiente de correlação e o erro padrão da estimativa. Na espectrofotometria derivada construiu-se uma curva de calibração utilizando a derivada de primeira ordem dos espectros obtidos a 238,75nm e a 225nm das concentrações entre 5,0 e 25,0µg/mL de dicloridrato de cetirizina em HCl 0,1N. O método para quantificação do fármaco nos comprimidos foi zero pico e no xarope, o ponto de anulação dos parabenos a 225nm. Realizaram-se os respectivos testes de especificidade para observar a metodologia a ser empregada com cada amostra. Determinou-se o teor de dicloridrato de cetirizina nas amostras obtendo-se valores entre 108,81% e 96,00% para o método direto e 98,67% e 95,34% para o método derivado quando aplicados em comprimidos, para xaropes o teor obtido com a amostra simulada foi de 100,73% utilizando o método derivado. A exatidão do método foi comprovada mediante o teste de recuperação, obtendo-se valores entre 98,53% e 101,67% utilizando o método direto e de 98,80% a 102,00% pelo método derivado para comprimidos. Para xaropes a recuperação esteve entre valores de 100,22 e 100,89% quando determinada na amostra simulada. Os métodos apresentaram boa linearidade (0,9999), precisão e exatidão dentro dos limites estabelecidos e podem ser aplicados em amostras comerciais quando estas estiverem dentro das condições estudadas.

ABSTRACT

The direct and derivative spectrophotometry was used to dosage cetirizine dihydrochloride in pharmaceuticals preparations. The identification of cetirizine dihydrochloride was done according to the European Pharmacopoeia 3rd edition - 1996. The Ringbom curve was constructed at 231nm using cetirizine solution in 0.1N hydrochloride acid. The calibration curve was constructed between concentrations of 6.0 and 24.0 μ g/mL, and correlation coefficient and standard error were calculated. In the derivative spectrophotometry the curve was constructed using first order derivative of the spectra obtained at 238.75nm and 225nm of the concentration between 5.0 and 25.0 μ g/mL of cetirizine dihydrochloride in 0.1N hydrochloride acid. The quantification method used for tablets was the zero-peak and for syrups zero- crossing of the parabens at 225nm. Each methodology was submitted to respective specificity test. The concentration of cetirizine dihydrochloride determined in the tablets were between 108.81 - 96.00% with direct method and between 98.67 - 95.34% with derivative method. In syrups determined concentration was 100.73 % using derivative method. The accuracy of the method proved with the recovery test between 98.53 - 101.67% for the direct method and with the derivative method was 98.80 - 102.00% in tablets. For syrup the recovery was between 100.22 - 100.89% in the simulate sample. The methods have good linearity ($r=0,9999$), precision and accuracy at determined conditions. The proposed methods can be used for quantitative analisis of cetirizine dihydrochloride in comercial samples, at studied conditions.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DA LITERATURA	
2.1 GENERALIDADES	04
2.2 NOMENCLATURA	08
2.3 SÍNTESE E ESTRUTURA QUÍMICA DA CETIRIZINA	08
2.4 PROPRIEDADES FÍSICO - QUÍMICAS	10
2.5. ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	10
2.5.1 MECANISMO DE AÇÃO	10
2.5.2 FARMACODINÂMICA	12
2.5.3 FARMACOCINÉTICA	14
2.5.4 USOS – DOSES	15
2.5.5 CONTRAINDICAÇÕES	17
2.5.6 REAÇÕES ADVERSAS	18
2.6 METODOLOGIA ANALÍTICA DO DICLORIDRATO DE CETIRIZINA	18
2.6.1 DETERMINAÇÃO EM FLUIDOS BIOLÓGICOS	19
2.6.2 DETERMINAÇÃO DA CETIRIZINA COMO MATÉRIA PRIMA	20
2.6.2.1 MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO	20
2.6.2.1.1 ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA	20
2.6.2.1.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO	20
2.6.2.1.3 CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA..	21

2.6.2.1.4 REAÇÃO DE CLORETOS.....	21
2.6.2.2 METODOS DE DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA EM MEDICAMENTOS.....	22
2.6.2.2.1 ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA E VISÍVEL	22
2.6.2.2.2 ESPECTROFOTOMETRIA DERIVADA	23
2.6.2.2.3 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA	24
2.7 METODOLOGIA ANALITICA DESENVOLVIDA.....	24
ESPECTROFOTOMETRIA DERIVADA	24
3 PROPOSIÇÃO	29
4 PARTE EXPERIMENTAL	30
4.1 MATERIAL	30
4.1.1 MATÉRIAS PRIMAS	30
4.1.2. SOLVENTES, SOLUÇÕES E REAGENTES	31
4.1.3 FÁRMACO EMPREGADO COMO SUBSTÂNCIA DE REFERÊNCIA	31
4.1.4 AMOSTRAS	32
4.1.5. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS	34
4.1.6 EQUIPAMENTOS	36
4.2 MÉTODOS	37
4.2.1 IDENTIFICAÇÃO	37
4.2.2 METODOLOGIA ANALÍTICA	38
4.2.2.1 ESPECTROFOTOMETRIA NO UV	38
4.2.2.1.1. PARÂMETROS ESTABELECIDOS...	38
4.2.2.1.2 CONSTRUÇÃO DA CURVA DE RINGBOM.....	38
4.2.2.1.3 CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO.....	39
4.2.2.1.4 PESQUISA DE INTERFERENTES	39
4.2.2.1.5 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NAS AMOSTRAS.....	43
4.2.2.1.6 TESTE DE RECUPERAÇÃO	44
4.2.2.2. ESPECTROFOTOMETRIA DERIVADA	45
4.2.2.2.1 PARÂMETROS ESTABELECIDOS....	45

4.2.2.2.2 CONSTRUÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO	46
4.2.2.2.3 PESQUISA DE INTERFERENTES	47
4.2.2.2.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NAS AMOSTRAS	49
4.2.2.2.5 TESTE DE RECUPERAÇÃO	50
5 RESULTADOS	53
5.1 IDENTIFICAÇÃO	53
5.1.1 ESPECTRO NO INFRAVERMELHO	53
5.1.2 ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA	53
5.1.3 REAÇÃO QUÍMICA	53
5.2 METODOLOGIA ANALITICA	56
5.2.1 ESPECTROFOTOMETRIA NO UV	56
5.2.1.1 CURVA DE RINGBOM	56
5.2.1.2 CURVA DE CALIBRAÇÃO	58
5.2.1.3 PESQUISA DE INTERFERENTES	60
5.2.1.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NAS AMOSTRAS ...	65
5.2.1.5 TESTE DE RECUPERAÇÃO	66
5.2.2 ESPECTROFOTOMETRIA DERIVADA	68
5.2.2.1 CURVA DE CALIBRAÇÃO	68
5.2.2.2 PESQUISA DE INTERFERENTES	72
5.2.2.3 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NAS AMOSTRAS....	79
5.2.2.4 TESTE DE RECUPERAÇÃO	82
6 DISCUSSÃO	85
6.1 IDENTIFICAÇÃO	85
6.2 METODOLOGIA ANALÍTICA	87
6.2.1 ESPECTROFOTOMETRIA NO UV	87
6.2.1.1 PARÂMETROS ESTABELECIDOS	87
6.2.1.2. CONSTRUÇÃO DA CURVA DE RINGBOM E DE CALIBRAÇÃO	87
6.2.1.3 PESQUISA DE INTERFERENTES	88
6.2.1.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NAS AMOSTRAS....	89
6.2.1.5 TESTE DE RECUPERAÇÃO	89

6.2.2 ESPECTROFOTOMETRIA DERIVADA	90
6.2.2.1 PARÂMETROS ESTABELECIDOS	90
6.2.2.2 CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO....	91
6.2.2.3 PESQUISA DE INTERFERENTES	91
6.2.2.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NAS AMOSTRAS.....	92
6.2.2.5 TESTE DE RECUPERAÇÃO	93
7 CONCLUSÕES	94
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96

INTRODUÇÃO

A reação alérgica é definida como sendo a susceptibilidade frente a uma substância específica ou antígeno responsável pela produção de anticorpos do tipo imunoglobulina E (IgE)⁶⁵. Estes anticorpos estão presentes em células como mastócitos e basófilos, que são encontrados no trato respiratório, gastrintestinal e na pele. Quando ativados por substâncias sensibilizadoras ou agentes físicos traumáticos, produzem a substância química denominada histamina, a qual causa sintomas como rinite, coceira, urticária, eczemas, dermatite, entre outros.

Ao mesmo tempo, os mastócitos e células vizinhas recebem sinais de substâncias mediadoras que interagem com enzimas responsáveis pela produção de prostaglandinas e leucotrienos causadores das respostas inflamatórias, obstruindo as vias respiratórias e podendo até levar a choque anafilático^{4,65,66,81}.

Para tratar esse tipo de reação foram desenvolvidas e estudadas diversas substâncias, cuja atuação pode ser inibindo a proliferação de IgE, como no caso da prednisolona; diminuindo a liberação de mediadores a partir dos mastócitos e basófilos, como por exemplo adrenalina e teofilina; ou inibindo competitivamente a histamina, como cinarizina, clorfeniramina, cetirizina, entre outras⁴³.

Esse último grupo de substâncias que atua competindo com a histamina mostrou grande desenvolvimento nos últimos anos^{4,66}.

As primeiras substâncias desenvolvidas foram a fenbenzamina e piribenzaminas que inibem os receptores H₁ da histamina, inibindo também receptores muscarínicos, adrenérgicos, serotoninérgicos. Melhoram o quadro de alergia, produzindo, entretanto, muitos efeitos colaterais no sistema nervoso central e sistema cardiovascular. Posteriormente, desenvolveram-se outras substâncias com menor afinidade por estes receptores, como por exemplo, prometazina, clorfeniramina, difenidramina que produzem efeitos adversos menos acentuados, mas ainda atuam no sistema nervoso central causando sonolência⁷³.

Atualmente, o desenvolvimento de novas substâncias como o astemizol, a loratadina, a terfenadina e a cetirizina permitiram que, nas doses recomendadas para o tratamento de manifestações alérgicas, não haja o aparecimento da sonolência^{4,73}.

Estudos comparativos entre a cetirizina, clorfeniramina, hidroxizina, astemizol, terfenadina e loratadina comprovam que a cetirizina fornece respostas melhores em relação aos outros fármacos, diminuindo os sintomas de rinite alérgica, congestão nasal, urticária e conjuntivites alérgicas^{67,74}.

A cetirizina é o principal produto do metabolismo da hidroxizina (ansiolítico suave e anti-histamínico em doses altas). É antagonista de segunda geração do receptor H₁, do grupo das piperazinas, atravessa a barreira hematoencefálica em pequenas quantidades e nas doses recomendadas produz pouca sonolência^{25,26}.

Atualmente, a cetirizina é comercializada com os nomes de Zyrtec® (Glaxo Wellcome.), Zetalerg® (UCI-FARMA), Zetir® (Abbott), Zinetrin® (Stiefel),

Cetirizin® (Sintofarma), Alerlisin® (Menarini), Aletir® (Bunker). As principais apresentações farmacêuticas são em xaropes de 1mg/mL e comprimidos de 10mg^{18,53,82}.

Por se tratar de um fármaco sintetizado há menos de 25 anos⁷, os estudos realizados são principalmente de caráter farmacológico, a literatura oficial (Farmacopéias Britânica e Americana) ainda não apresentam um método para sua determinação em preparações farmacêuticas. O presente trabalho tem como objetivo testar as metodologias analíticas propostas já existentes, para a identificação e doseamento da cetirizina em formulações farmacêuticas e propor uma nova metodologia simple e rápida para análise das mesmas.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. GENERALIDADES

A histamina ou beta 4-imidazolil etilamina (Figura 1) foi sintetizada em 1907 por WINDAUS & VOGT, a partir do ácido imidazolpropiónico, mas apenas em 1910 foi identificada em material biológico por BARGER & DALE.

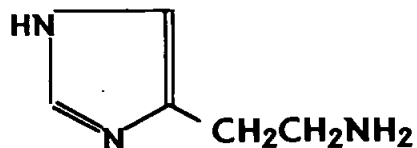


Figura 1. Histamina (beta-(4-imidazolil) etilamina)

A partir da observação inicial de LEWIS, em 1927, determinou-se a liberação desta substância na célula, estabelecendo-se a participação da mesma na recuperação, crescimento celular e numerosas condições patológicas, em especial moléstias alérgicas, choque anafilático e reações inflamatórias ^{4,45,66,81}.

A histamina é produzida no organismo pela descarboxilação da histidina através da histidina-descarboxilase, cuja coenzima é o piridoxal-5 fosfato⁸¹. O principal sítio de armazenamento da histamina é o mastócito e, no sangue^{43,45,81} é o basófilo^{43,81}.

Na presença de agentes químicos que lesam os tecidos como venenos, toxinas ou agentes físicos traumáticos ou ainda fatores que causam sensibilização do órgão, a histamina é liberada, provocando sintomas tais como: edema, inflamação e vasodilatação, podendo levar à hipotensão e culminando com choque circulatório^{4,43,81}.

Também, a histamina exerce papel importante no estímulo da secreção do ácido gástrico, agindo através dos receptores H₂. Já nos receptores H₁, estimula as terminações nervosas sensitivas provocando sensação de coceira e dor além de ser mediadora na resposta asmática^{43,81}.

A identificação da histamina como mediador químico nas reações alérgicas, despertou o interesse na procura de substâncias que agissem como antagonistas específicos⁶⁶.

Em 1937, BOVET selecionou o bloqueador adrenérgico piperoxano, descoberto três anos antes por FORNEAU^{4,45,73}. Este mostrou certa atividade antagonista sobre a histamina em intestinos isolados mas pouca atividade em tecido vivo^{4,66,73}.

Em 1939 STAUB examinou análogos de piperoxano encontrando que alguns deles tinham a reatividade necessária para antagonizar receptores histamínicos em tecido vivo, porém estas substâncias eram muito tóxicas para administração em seres humanos.

Somente em 1942 MOSNIER da Rhone- Poulenc Company, sintetiza a "febenzamina", N-benzil-N',N'-dimetil-N-fenil-etilenodiamina (Antergan®), primeiro anti-histamínico de uso clínico ^{45,73} (Figura 2).

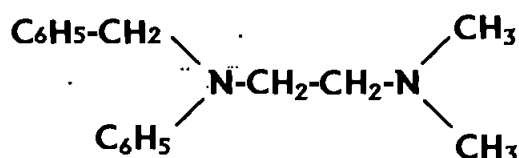


Figura 2. Estrutura química da febenzamina

Posteriormente, pesquisadores da Ciba Pharmaceuticals em Summit, New Jersey, sintetizaram um composto similar denominado piribenzamina. Na mesma época, a difenidramina foi planejada por GEORGE RIEVESCHL e o composto foi sintetizado em 1943 por um de seus estudantes. O composto foi testado por HUBER e DAVIS, que o patentearam.

Desde então, numerosos anti-histamínicos têm sido comercializados e destinados principalmente ao tratamento da rinite e de outras manifestações alérgicas ⁶⁶.

Tentando diminuir os efeitos adversos de sonolência próprios deste tipo de composto, G.D. SEARLE e Cia introduziram um derivado da difenidramina com o análogo do ácido cafeínico, (8-cloro-teofilina); denominando esta molécula como dimenidrato, patenteada como Dramamina®. Isto não resolveu o problema, mas descobriu-se que diminuíram os sintomas de náuseas, vertigens e vômitos ⁷³.

Durante a última guerra foram testadas aminas derivadas da fenotiazina como compostos antimaláricos. HALPERN e DUCROT observaram que uma dessas fenotiazinas, a fenetazina, era análoga da febenzamina, de maneira que, em 1946, agregou-se um grupo metil à molécula etilendiamina, obtendo-se um potente anti-histamínico denominado de prometazina (Fenergan®)⁷³.

SPERBER, PAPA e SCHWENK da corporação Shering, em 1948, sintetizaram uma nova série de anti-histamínicos do grupo alquilamínico, entre os quais estão a feniramina (Trimeton®) e outros mais potentes como clorfeniramina e bronfeniramina⁷³.

Em 1949, BALTZLY, DU BREUIL e LORZ reportaram a síntese da ciclizina (Marzine®) e a clorciclizina, anti-histamínicos muito mais potentes, utilizados pela United States National Aeronautic and Space Agency, no combate das doenças do espaço (vertigens), em astronautas⁷³.

Todos os fármacos introduzidos até 1950 serviram como protótipos para o desenvolvimento de outros anti-histamínicos⁷³. Lamentavelmente, o problema da sonolência produzida por este tipo de medicamento não tinha sido superado até o ano de 1980⁴.

No ano de 1982, foram introduzidos, no mercado do Reino Unido, os produtos terfenadina (Triludan®) pela Merrel Pharmaceuticals e o astemizol (Hismanal®) pela Janssen que, por apresentarem alta polaridade, não atravessam a barreira hematoencefálica em quantidades suficientes e, assim, causam poucos efeitos no sistema nervoso central (SNC)⁷³.

Nesse mesmo ano, também foi apresentada a patente da síntese do fármaco cetirizina⁷, o qual é um derivado da ciclizina pertence ao grupo das piperazinas, com pouca afinidade pelo SNC¹¹, e afinidade similar à terfenadina, em relação aos receptores H₁^{67,74}.

A maioria dos trabalhos realizados sobre esta substância refere-se ao efeito farmacológico sobre os receptores H₁ e o SNC, encontrando-se poucos trabalhos referentes a determinações quantitativas.

2.2. NOMENCLATURA:

A cetirizina apresenta-se sob a forma de dicloridrato de cetirizina. Corresponde ao ácido [2-[4-[(4-clorofenil)fenilmetil]1-piperazinil]etoxi] acético ^{7,20,21,49,52,53,77,78}.

2.3. SÍNTESE E ESTRUTURA QUÍMICA:

A cetirizina é sintetizada mediante condensação do 1-(4-clorodifenilmetil) piperazina (I) com acetato de metil 2-(2-cloroetoxi) (II), tratado com Na₂CO₃ a refluxo em xileno, dando como resultado, o metil 2-[2-[4-(4-clorodifenilmetil)-1-piperazinil etoxi] acetato (III) o qual é hidrolizado com KOH em etanol a refluxo obtendo-se a cetirizina (IV)⁵². Na Figura 3 é apresentada a síntese da cetirizina.

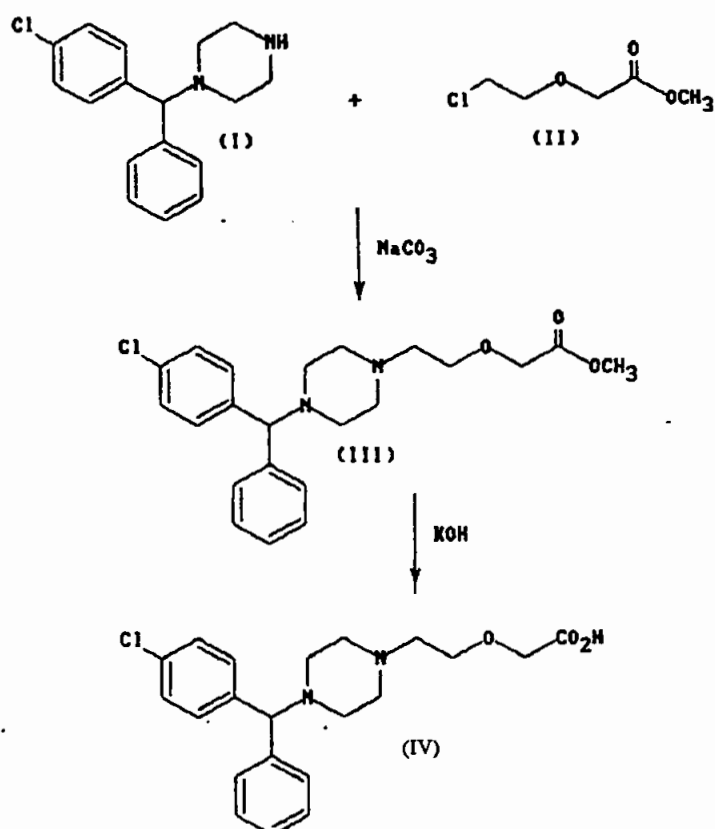


Figura 3. Síntese da cetirizina: (I) 1- (4-clorodifenilmetil) piperazina, (II) acetato de metil 2-(2-cloroetoxi), (III) metil 2-[2-[4-(4-cloro-difenilmetil)-1- piperazinil etoxi acetato, (IV) cetirizina.

Mediante adição de duas moléculas de HCl obtém-se o dicloridrato de cetirizina, que tem fórmula molecular $C_{21}H_{25}ClN_2O_3 \cdot 2HCl$ e peso molecular 461,8.

2.4. PROPRIEDADES FÍSICO - QUÍMICAS:

Dicloridrato de cetirizina contém no mínimo 99,0% e no máximo o equivalente a 100,5% de $C_{21}H_{25}ClN_2O_3 \cdot 2HCl$, calculado com referência à substância seca.

O dicloridrato de cetirizina é um pó branco, muito solúvel em água, praticamente insolúvel em acetona, cloreto de metileno e clorofórmio^{21,53}.

2.5. ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

2.5.1. MECANISMO DE AÇÃO

Esse tipo de composto impede os efeitos da histamina através da sua interação com os receptores histaminérgicos do tipo H_1 (bloqueio competitivo). Os antagonistas H_1 contém um grupo etilamina substituída, semelhante à histamina.

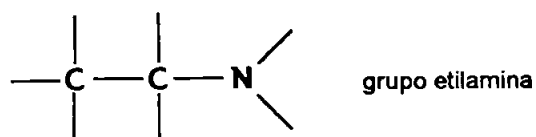


Figura 4. Fórmula geral da histamina.

Ao contrário da histamina que contém um grupo amino primário e o anel aromático simples, muitos antagonistas H_1 possuem um grupo amino terciário

ALBANESI e colaboradores chegaram à conclusão de que a cetirizina também tem a capacidade de bloquear o interferon gamma, o qual induz a ativação dos queratinócitos que exercem efeitos regulatórios importantes em células que mediam respostas de imunização na pele².

2.5.2. FARMACODINÂMICA

Estudos in-vitro têm demonstrado que a cetirizina tem alta afinidade específica pelo receptores H1 e a concentração que produz 50% de inibição nas ligações específicas (IC50) foi estimada em 0,65µmol/L para sítios H1⁷⁴. Ao contrário a IC50 para receptores dos canais de cálcio adrenérgicos alfa 1, dopaminérgicos D₂, serotonina 5-HT₂ e receptores muscarínicos, excede concentrações de 10µmol/L. A cetirizina apresenta menor afinidade por estes receptores do que a terfenadina e a hidroxizina, mas os três agentes apresentam afinidade similar frente receptores histamínicos H1^{67,74}.

Estudos preliminares realizados em macacos Rhesus comparando a cetirizina e a clorfeniramina, demonstraram que a cetirizina diminui o eritema e a vermelhidão numa porcentagem de 20% a mais que a clorfeniramina, e no trato respiratório a cetirizina exerce maior efeito que a clorfeniramina em relação à inibição da histamina²².

Em seres humanos, para supressão da resposta alérgica, foi demonstrado que 10mg de cetirizina apresentam potência similar a 50mg de difenidramina, a 25mg de hidroxizina e a 180mg de terfenadina. Mas a dose de 10mg de cetirizina é mais potente que 10mg de loratadina, 6mg de clorfeniramina, e apresenta efeito mais rápido que 10mg de astemizol^{67,74}.

Cetirizina em doses terapêuticas similares à ebastina induz inibição mais rápida e consistente sobre a histamina cutânea que a ebastina²³.

Doses de 5 a 20mg de cetirizina causam efeito protetor (dose-dependente) contra broncoespasmo produzido em asmáticos^{11,67}, devido ao bloqueio dos receptores H₁ nos músculos lisos das vias aéreas¹¹.

Foram realizados numerosos testes para observação do efeito psicomotor no SNC; verificaram-se menores reações de sedação e sonolência com este fármaco^{15,25,26,48}, que se explica por comparação da hidroxizina (precursor) em doses de 25mg com cetirizina em doses de 10mg.

Acredita-se que, por ser a cetirizina uma substância oxidada, produto do metabolismo da hidroxizina, tenha características muito mais polares, o que diminui sua passagem através da barreira hematoencefálica^{15,19,25,26}, característica aproveitada para empregar esse fármaco em casos de asma pois, ao contrário dos outros anti-histamínicos que têm efeitos anti-colinérgicos, não produz ressecamento da mucosa oral podendo ser empregado em casos de asma moderada¹¹.

No trabalho realizado por Nicholson e colaboradores mostrou-se que a cetirizina tem habilidade limitada para atravessar a barreira hematoencefálica mas, com aumento da dose administrada, as propriedades de sedação podem se manifestar, visto que a cetirizina não está completamente livre de efeitos centrais; devido a este fato não se recomenda seu uso em pessoas que devem manter alerta total (aviadores)⁶⁰.

Frente aos problemas ocasionados por anti-histamínicos como terfenadina e astemizol que têm provocado arritmias e mortes repentinas, foi realizado um estudo sobre os efeitos electrocardiográficos da cetirizina em pacientes normais. Foi verificado que a cetirizina prolonga o intervalo QT

quando administrada em pacientes normais em doses desde duas até seis vezes maiores que a dose usual. Este resultado fornece certa segurança sobre a administração da cetirizina quando utilizada nas doses recomendadas⁶⁹.

2.5.3. FARMACOCINÉTICA

A cetirizina, após administração, é rapidamente absorvida do trato gastrointestinal. A concentração máxima encontrada no plasma é alcançada cerca de uma hora após sua administração. Sua alta afinidade pelas proteínas plasmáticas permite meia vida de 11 horas⁶⁷.

Traços do fármaco foram detectados no leite materno. Aproximadamente entre 60% e 70% da cetirizina é eliminada sem alteração pela urina^{67,68}.

A cetirizina é uma exceção dos anti-histamínicos de segunda geração uma vez que não é metabolizada pelo citocromo P450 e é principalmente excretada na urina¹⁹.

A cetirizina é rapidamente absorvida e eliminada com vida média de 7 a 11 horas em adultos saudáveis, 7 horas em crianças, 12 horas em idosos e 21 horas em adultos com insuficiência renal¹⁹.

WOOD e colaboradores estudaram o metabolismo e a farmacocinética da cetirizina em seres humanos, confirmando dados anteriores, além disso, verificaram que 60% da cetirizina é excretada na urina sem alterações nas primeiras 24 horas, 10% nas fezes e o restante nos dias seguintes, por via renal⁸⁰.

MATZKE e colaboradores estudaram a farmacocinética da cetirizina em pacientes idosos com insuficiência renal, também confirmando que a meia vida de eliminação é significativamente mais prolongada quando comparada com adultos jovens⁵⁰.

PARIENTE-KHAYAT e colaboradores realizaram o estudo da farmacocinética desta substância em crianças de 2,5 a 5 anos. Fizeram uma comparação do período de meia vida de eliminação com adultos, encontrando que em crianças este período é diminuído à metade e que a quantidade de cetirizina excretada sem alterações na urina é maior que em adultos. Esses resultados sugerem que deve ser administrada uma dose maior, duas vezes diária em crianças⁶². SPICAK e colaboradores encontraram os mesmos resultados em crianças menores de 2 anos⁷⁵.

2.5.4. USOS – DOSES

A cetirizina é indicada:

- no tratamento e profilaxia de rinites (alérgica ou vasomotora).

HAYE e colaboradores estudaram o efeito da cetirizina em sintomas associados da polipose nasal achando que definitivamente pode ser empregada como tratamento para este tipo de afecção³⁴.

- na conjuntivite alérgica:

Atenua a capacidade primária em neutrófilos do fluido lacrimal⁴².

- no tratamento de prurido e urticária crônica idiopática.

HENZ e colaboradores realizaram uma pesquisa comparando os efeitos da cetirizina e azelastina, verificando que a última apresenta maior capacidade na redução do prurido enquanto que a cetirizina causa uma redução mais acentuada do eritema³⁵.

JULHIN e colaboradores também estudaram o efeito inibitório causado por 10mg de cetirizina oral sobre dermatografismo e urticária induzida pela aplicação de histamina exógena e o composto 48/80 (agente alergênico). Foi verificada a eliminação dos eritemas e da vermelhidão 4 horas depois da aplicação⁴¹.

- nos casos de asma bronquial:

Reduz os sintomas e aumenta a broncodilatação em pacientes com asma moderada.

- na reação anafilática:

Utilizada como tratamento e adjuvante^{18,67,82}.

- na meningite asséptica secundária:

Tem dado efeitos benéficos quando utilizada como adjuvante⁴⁰.

Posologia

Adultos e Adolescentes:

Recomendam-se de 5 a 10mg por dia, via oral; as doses podem ser aumentadas até 20mg por dia, dependendo da gravidade dos sintomas e resposta do paciente ^{18,67,74,78,82}.

Nota: recomenda-se uma dose de 5mg por dia para pacientes com insuficiência renal ^{18,49,67,74,78,82}.

Pediátrica:

Crianças de 2-6 anos: 5mg por dia, via oral, ou 2,5mg duas vezes ao dia.

Crianças de 6 – 11 anos: 10mg por dia, via oral; ou 5mg duas vezes ao dia.

Geriátrica:

Para indivíduos idosos mais sensíveis aos efeitos da droga, recomenda-se que as doses sejam ajustadas ^{18,67,74,78,82}.

2.5.5. CONTRA-INDICAÇÕES

A cetirizina não deve ser utilizada no caso de hipersensibilidade a alguns dos componentes da preparação, durante períodos de amamentação¹⁹ e durante o primeiro trimestre de gravidez. É considerada pela FDA como risco de categoria B quando administrada durante a gravidez⁷⁸.

O risco - benefício do seu uso deve ser avaliado em situações clínicas como: predisposição a retenção urinária, obstrução da bexiga, hipertrofia prostática sintomática e glaucoma⁸².

2.5.6. REAÇÕES ADVERSAS

Podem ocorrer ocasionalmente: aumento da sensibilidade da pele à luz solar, aumento da sudorese, anorexia, zumbido, tonturas, exantema, desconforto ou dores estomacais, discrasia sangüínea e reação paradoxal de excitação (pesadelos, irritabilidade, inquietação e excitação anormal)^{67,74,78,82}.

2.6. METODOLOGIA ANALÍTICA DO DICLORIDRATO DE CETIRIZINA.

O estudo químico-analítico da cetirizina não está, ainda, completo e a maioria dos trabalhos científicos são de caráter biológico, por exemplo estudos de bioequivalência⁵⁸ e determinações em urina, plasma, soro, quase sempre utilizando métodos cromatográficos^{6,55,68}.

Para a determinação da cetirizina em sua forma pura ou quando presente em medicamentos existem métodos de identificação e doseamento baseados em técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência, espectrofotometria no ultravioleta e espectrofotometria derivada, e ainda procedimentos colorimétricos^{20,24,63,77}.

2.6.1. DETERMINAÇÃO EM FLUIDOS BIOLÓGICOS.

Pela revisão da literatura pode-se observar que dos métodos utilizados para a determinação da cetirizina em fluidos biológicos (urina, soro) a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é a mais empregada ^{6,55}. Na Tabela 1 apresentam-se os parâmetros envolvidos neste método.

Tabela 1: Parâmetros empregados para determinação da cetirizina em fluidos biológicos aplicando a CLAE.

Tipo de Fluido	Fase Móvel	Coluna	Detecção UV (nm)	Ref.
Urina	Fosfato tetrabutílica amonio – metanol- tetraidrofurano. (33:65:2, v/v)	Spherisorb® 50DS-2 (25cm x 4,6mm I.D.)	230	68
Soro	Acetonitrilo-metanol- sol. tampão fosfato 0,05M de fosfato. (33:9:58, v/v)	Spherisorb® 50DS-2 (25cm x 4,6mm I.D.)	211	55

Também foi aplicada a cromatografia líquida de alta eficiência como método de determinação para o estudo de bioequivalência de formulações comerciais contendo cetirizina ⁵⁸.

BALTES e colaboradores em 1987, padronizaram o método de cromatografia a gás para determinação da cetirizina, em plasma humano, aproveitando os grupos carboxílicos e o nitrogênio molecular presente na molécula. A técnica envolve esterificação e detecção mediante ionização de chama ⁶.

2.6.2. DETERMINAÇÃO DA CETIRIZINA COMO MATÉRIA PRIMA E EM MEDICAMENTOS.

Tanto para identificação como doseamento, os métodos utilizados baseiam-se principalmente em técnicas espectrofotométricas e cromatográficas ^{20,24,63,77}.

2.6.2.1. MÉTODOS DE IDENTIFICAÇÃO.

2.6.2.1.1. ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA

Segundo a Farmacopéia Européia 3^a ed., o dicloridrato de cetirizina, em solução de HCl 0.1M, deve ser analisado entre 210 e 350nm, apresentando máximo de absorção a 231nm²¹.

2.6.2.1.2. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO (IV).

A espectroscopia no IV é um método recomendado pela Farmacopéia Européia 3^a ed. para identificação da cetirizina como matéria prima.

Este método baseia-se na preparação de uma pastilha de brometo de potássio e dicloridrato de cetirizina em proporções (10:1, p/p) com posterior identificação espectroscópica²¹.

Recentemente GONÇALVES e HARAGUCHI, apresentaram em congresso um método para doseamento por espectroscopia no infravermelho escolhendo a absorção de estiramento da carbonila em 1734cm^{-1} ²⁹.

2.6.2.1.3. CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA.

A Farmacopéia Européia descreve um método utilizando como fase estacionária sílica gel GF₂₅₄ e fase móvel constituída de cloreto de metileno/metanol/amônia (90:10:1, v/v). O revelador utilizado foi luz ultravioleta a 254nm²¹.

2.6.2.1.4. REAÇÃO DE CLORETOS

Pesa-se quantidade de cetirizina equivalente a 2mg de cloretos. Estes devem reagir com nitrato de prata em meio de ácido nítrico dando um precipitado branco²¹.

2.6.2.2. MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA EM MEDICAMENTOS.

A literatura oficial ainda não possui uma metodologia para determinação desta substância em formas farmacêuticas. Alguns trabalhos foram propostos para sua determinação, baseados em métodos espectrofotométricos e cromatográficos^{20,24,63,77}.

2.6.2.2.1. ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA E VISÍVEL (UV/VÍSEL).

Vários autores propuseram técnicas para quantificação da cetirizina em medicamentos, utilizando a espectrofotometria no ultravioleta e visível com pequenas variações^{20,24,63}.

Um procedimento direto e simples foi apresentado no trabalho publicado por PARTHASARADHI e colaboradores para a análise do dicloridrato de cetirizina em preparações farmacêuticas sólidas. A amostra foi diluída, com água ultrapurificada até concentrações apropriadas para leituras na região ultravioleta e a absorbância foi determinada a 230 nm. Foi feita a curva de calibração e observou-se boa linearidade. O método foi aplicado aos comprimidos não havendo interferência dos excipientes⁶³.

EL WALILY e colaboradores também apresentaram método espectrofotométrico para determinação da cetirizina em comprimidos. Alegando a baixa absorbância na leitura direta a 230nm, desenvolveram procedimento colorimétrico, onde determinaram a 556nm absorbância do grupo cromóforo

resultante da reação do sal de sódio da cetirizina e cloranil, utilizando como solvente a dimetilformamida²⁰.

GARG e colaboradores determinaram o teor de cetirizina em xaropes. Sabendo-se que os agentes conservantes têm absorvância na faixa de comprimento de onda de máxima absorvância da cetirizina, estes foram extraídos com clorofórmio e a solução resultante de cetirizina foi determinada a 230nm. Segundo o autor a metodologia empregada demonstrou ser precisa e reprodutível²⁴.

2.6.2.2.2. ESPECTROFOTOMETRIA DERIVADA

Recentemente EL WALILY e colaboradores aplicaram esta técnica para determinação do teor de cetirizina em comprimidos. Foram preparadas soluções aquosas de cetirizina e obtidos espectros entre 200 e 300nm. A partir destes foram derivadas as curvas de primeira e segunda ordem e suas amplitudes foram determinadas a 239nm, utilizando-se o método zero-pico; entre 243 e 233nm utilizaram-se o método pico-pico. Comprovou-se que mediante derivação do espectro principal se elimina a interferência dos excipientes na leitura da absorção das amostras²⁰.

2.6.2.2.3. CROMATOGRAFIA LIQUIDA DE ALTA EFICIENCIA

SURYANARAYANA e colaboradores também trabalharam na determinação de cetirizina em comprimidos empregando a cromatografia líquida de alta eficiência.

Utilizaram uma coluna μ Bondapak® C₁₈ de 10m μ de aço inoxidável com fase móvel constituída de acetonitrila:diidrogeno ortofosfato de potássio (70:30, v/v); velocidade de fluxo de 1,0ml/minuto, e detecção UV a 230nm. O método proposto apresentou boa precisão e exatidão, com percentual de recuperação no intervalo de 99,2 – 99,7%⁷⁷.

2.7. METODOLOGIA ANALÍTICA DESENVOLVIDA

2.7.1. ESPECTROFOTOMETRIA DERIVADA

A espectrofotometria ultravioleta é um método que se baseia na medida de absorção da energia radiante que é absorvida por um sistema, sob determinadas condições^{17,28}.

Quando se tem vários compostos numa mesma preparação é muito difícil caracterizar cada um deles, se todos apresentam absorção em comprimentos de onda próximos. Isto ocorre pela sobreposição dos espectros impedindo a separação de cada banda, não se podendo, desta maneira, medir a absorção real de cada composto.

Mediante a determinação da derivada da curva ao longo de todo o espectro consegue-se muitas vezes o perfil característico ^{8,32,47,70} da curva, onde mudanças sutis de inclinação e curvatura se tornam mais evidentes, facilitando a caracterização de um composto e eliminando a deformação da curva causada pela presença de substâncias estranhas.

Um espectro representa a curva $A = f(\lambda)$, onde A é a absorbância e λ o comprimento de onda. A partir desta curva pode-se calcular em cada ponto as sucessivas derivadas.

$$\frac{dA}{d\lambda}, \frac{d^2A}{d\lambda^2}, \dots, \frac{d^nA}{d\lambda^n}$$

A partir dos valores obtidos traça-se a curva diferencial $d^n A/d\lambda^n$ que dá origem ao espectro derivado de ordem n ^{8,32,47}.

A diferenciação das curvas experimentais foi proposta por RUTHERFORD em 1920 para interpretar espectro de massas. Em 1950 começou a ser aplicada em diferentes técnicas como: polarografia, titulações potenciométricas, cromatografia em fase gasosa, espectroscopia (UV/visível, infravermelho, Raman), etc. ^{8,32,47,70}. Atualmente tem aplicações em análises farmacêuticas, inorgânicas, forenses, de alimentos, ambientais e outras ⁹.

O uso da espectrofotometria derivada, em análise quantitativa, é baseado no fato de o sinal obtido ser proporcional à concentração da substância ^{8,32,47,70}.

Para obtenção da concentração de uma substância através do espectro derivado são empregadas varias técnicas:

Método Zero – Pico: baseia-se na medida da amplitude do espectro derivado em qualquer comprimento de onda, exceto nos pontos de anulação. Dentro desta técnica também está o Método do Ponto de Anulação “zero crossing”, no qual a medição do valor absoluto da amplitude da derivada de uma curva composta (absorção de mais de uma substância) é realizada num determinado comprimento de onda, correspondente ao ponto de anulação da derivada do interferente; utiliza-se este método para eliminar erros provenientes de interferências específicas.

Método Pico-Pico: consiste em medir o valor absoluto da derivada entre um máximo e um mínimo contíguos. Possui sensibilidade maior que o anterior mas é mais susceptível às influências dos interferentes, caso não sejam anuladas no intervalo onde é realizada a leitura.

Método da Tangente: este último método consiste no traçado de uma tangente comum a dois máximos (ou mínimos) contíguos e na medida das distâncias da tangente ao máximo (ou mínimo) intermediário.

As medidas obtidas com qualquer destas técnicas podem variar com o comprimento de onda no qual são efetuadas, por tanto que deve-se ter cuidado no momento da leitura^{8,32,47}.

Para a padronização do método devem ser estabelecidos certos parâmetros:

- Ordem da derivada: deve ser escolhida aquela que ofereça maior separação entre os dois picos consecutivos, em caso de separação de misturas binárias, ou a maior amplitude do máximo de absorbância.

- Assentamento das ordenadas: este parâmetro está diretamente relacionado com a largura das bandas de absorção; escolhendo-se aquele que forneça a maior amplitude.

- Delta lambda ($\Delta\lambda$): incremento constante utilizado para traçar a curva derivada de um espectro de absorção; deve ser escolhido experimentalmente. Considera-se que utilizando-se valores muito altos de delta lambda diminuiu a resolução da curva derivada uma vez que, aumenta o sinal-ruído associado ao método e diminui a largura da banda de absorção ^{8,32,47,70}.

Esta metodologia tem sido amplamente aplicada em análise de medicamentos devido a sua simplicidade e por ser potencialmente utilizado como método direto.

Um dos maiores problemas na determinação de um princípio ativo numa formulação é a interferência que apresentam os excipientes no momento da análise, sendo necessária eliminação mediante extrações ou outras metodologias. Esta técnica, uma vez que possibilita a separação de bandas espectrais sobrepostas (princípio ativo – excipiente), permite a determinação sem necessidade de extrações ^{9,16}.

CONSIGLIERI e colaboradores aplicaram esta técnica para determinação do ibuprofeno em comprimidos, eliminando a interferência dos excipientes na determinação, obtendo porcentagens de recuperação entre 98,3 e 101,3% ¹⁶.

ABDEL-KHALEK e colaboradores também aplicaram esta técnica para eliminação desta interferência na determinação de substâncias benzênicas em comprimidos, capsulas e injeções, utilizaram a segunda derivada obtendo percentuais de recuperação entre 97,7 e 101,4%¹.

Esta técnica tem sido empregada para determinações simultâneas em formulações contendo mais de duas substâncias ativas como por exemplo: rifampicina e lidocaína em preparações injetáveis⁶¹, comprimidos de acetaminofeno com codeína³³, comprimidos contendo ácido ascórbico, piridoxina e tirosina⁷⁶, em misturas quaternárias de complexos vitamínicos⁵⁶. Para todas estas determinações o método quantitativo aplicado foi o zero crossing.

Em alguns casos a espectrofotometria derivada foi utilizada em estudos de estabilidade de medicamentos, assim são determinadas as substâncias ativas em presença dos produtos de degradação, como no caso da determinação do teor de ácido salicílico em comprimidos de aspirina⁴⁴.

3. PROPOSIÇÃO

A proposta desta pesquisa foi:

1. Testar algumas das metodologias espectrofotométricas apresentadas na literatura para determinação do dicloridrato de cetirizina, como referência.
2. Desenvolver e validar um método por espectrofotometria direta e derivada para determinar o dicloridrato de cetirizina em formulações farmacêuticas.
3. Aplicar os métodos padronizados em amostras simuladas e comerciais.

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. MATERIAL

4.1.1. MATERIAS PRIMAS

- Açúcar
- Aerosil® 200 (Dioxido de Silicone coloidal amorfo)
- Água deionizada
- Água destilada
- Álcool
- Avicel ®PH 200 (Celulosa microcristalina)
- Carbowax ® 600
- Cellactosa® 80 (Lactosa Monoidrato 75% e celulosa pulverizada 25%)
- Croscarmellosa Sódica
- Estearato de magnésio
- Eudragit® E 100 (dimetilaminoetil metacrilato 98%)
- Essência de cereja
- Isopropanol
- Metilparabeno
- Propilparabeno
- Sacarina
- Sorbitol
- Talco.

4.1.2. SOLVENTES, SOLUÇÕES e REAGENTES

- Uvasol – Kbr
- Ácido clorídrico R (Merck®)
- Hidróxido de amônio (Merck®)
- Metanol (Merck®)
- Diclorometano (Merck®)
- Clorofórmio (Merck®)
- Ácido clorídrico 0,1N.

Foram empregados solventes e reagentes de grau de pureza analítico.

4.1.3. FÁRMACO EMPREGADO COMO SUBSTÂNCIA DE REFERÊNCIA.

Dicloridrato de cetirizina, sem ulterior purificação, cedido por:

- Laboratórios Prieto S.A do Panamá. (Teor de pureza: 99,5%).
- Abbott Laboratórios do Brasil Ltda. (Teor de pureza: 99,7%).
- Laboratórios Uci-farma Industria Farmacêutica Ltda. (Teor de pureza: 99,5%).

4.1.4. AMOSTRAS

As amostras empregadas na realização da pesquisa foram as seguintes:

Amostra1: amostra simulada (comprimidos)

- Núcleo:

Cetirizina 2HCl	10,00mg
Avicel® PH 200	66,60mg
Cellactosa® 80	66,60mg
Croscarmelosa sódica	3,80mg
Aerosil®	1,50mg
Estearato de magnésio	<u>1,50mg</u>
		150,00mg

Revestimento do Núcleo:

Eudragit® E 100	2,20mg
Talco	1,00mg
Estearato de magnésio	0,30mg
Dióxido de titânio	0,70mg
Carbowax® 600	0,20mg
Água deionizada	0,30mg
Isopropanol	38,90mg

Amostra 2: placebo da amostra 1 (comprimidos)

Núcleo:

Avicel® PH 200	66,60mg
Cellactosa® 80	76,60mg
Croscarmelosa sódica	3,80mg
Aerosil®	1,50mg
Estearato de magnésio	<u>1,50mg</u>
		150,00mg

Revestimento do Núcleo:

Eudragit® E 100	2,20mg
-----------------	-------	--------

Talco	1,00mg
Estearato de magnésio	0,30mg
Dióxido de titânio	0,70mg
Carbowax® 600	0,20mg
Água deionizada	0,30mg
Isopropanol	38,90mg

Amostra 3: amostra simulada (xarope)

Cetirizina	1,0mg
Açúcar	453,6mg
Sorbitol	125,0mg
Sacarina	1,0mg
Álcool	6,7mg
Metilparabeno	0,7mg
Propilparabeno	0,3mg
Essência de cereja	0,3mg
Água destilada q.s.p.	1,0mL

Amostra 4: placebo da amostra 3 (xarope)

Açúcar	453,6mg
Sorbitol	125,0mg
Sacarina	1,0mg
Álcool	6,7mg
Metilparabeno	0,7mg
Propilparabeno	0,3mg
Essência de cereja	0,3mg
Água destilada q.s.p.	1,0mL

Amostra 5: placebo da amostra 3 (xarope)

Açúcar	453,6mg
Sorbitol	125,0mg
Sacarina	1,0mg
Álcool	6,7mg
Essência de cereja	0,3mg
Água destilada q.s.p.	1,0mL

Amostra A,B,C,D : amostras comerciais (comprimidos)

Dicloridrato de cetirizina	10,0mg
Excipientes q.s.p	1 comprimido.

Amostra E : amostra comercial (xarope)

Dicloridrato de cetirizina	1,0mg
veículo q.s.p	1,0mL.

4.1.5. PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Obs: Todos os componentes empregados na preparação das amostras simuladas foram de grau farmacêutico. As formulações são baseadas nas formulações provenientes dos Laboratórios ALMAPAL S.A. e PRIETO S.A.

Comprimidos**a. Amostra simulada 1:**

Formulação para 500 comprimidos:

1. Foram pesados o Avicel®PH200, a Cellactosa®80, a cetirizina e a croscarmellosa sódica e transferidos para uma bolsa plástica para homogenização durante 5 minutos.
2. Posteriormente foi adicionado à mesma bolsa o Aerosil®200 previamente tamizado em malla 16 e o estearato de magnésio. Procedeu-se a homogenização de todos por mais 1 minuto.
3. Ao mesmo tempo foram ajustados na máquina compressora o peso (150,0mg) e a dureza (6,0 – 7,0kgf) dos comprimidos, com cellactosa® 80 procedeu-se a compressão.

4. Para determinação da quantidade de suspensão a preparar para o revestimento foram levados em consideração o diâmetro e altura dos núcleos anteriormente comprimidos.
5. Foi pesado o Eudragit E®100 e adicionado a 175,0g de isopropanol.
6. Em separado, foram pesados 56,1g de isopropanol e adicionados a este sob constante agitação, 11,9g de talco, 3,4g de água deionizada e 1,75g de Carbowax® 600. Esta suspensão depois de total homogeneização foi passada por um moinho coloidal.
7. As suspensões preparadas nos itens 5 e 6 foram adicionados em 215,0g de isopropanol.

Todos estes processos foram realizados sob constante agitação.

8. A suspensão do item 7 foi aplicada nos comprimidos com ajuda de uma pistola de injeção e ar quente, dentro de uma drageadora em movimento.
9. Os comprimidos revestidos assim obtidos foram mantidos em uma bandeja por 12 horas para sua secagem total.

b. Amostras 2 (placebo):

Para o preparo da amostra 2 (placebo), seguiu-se o procedimento do item anterior colocando no lugar de cetirizina, a Cellactosa® 80.

Xarope

a. Amostra simulada 3:

1. Foi dissolvida a cetirizina em água destilada por 5 minutos.
2. Adicionou-se a esta preparação, o açúcar e o sorbitol.
3. A sacarina foi dissolvida previamente em água destilada e adicionada a preparação.
4. Foram dissolvidos os parabenos e a essência em álcool, e a esta preparação adicionaram-se algumas gotas de água destilada, formando uma solução hidroalcoólica a qual foi adicionada à mistura.
5. A mistura total foi agitada por 5 min.
6. O volume foi completado com água destilada em q.s.p. a preparação final e a agitação foi mantida por mais 5 minutos.

Todo o processo foi realizado sob constante agitação.

b. Amostra 4 e 5 (placebos):

Foram seguidos os mesmos procedimentos que para a amostra simulada 3, omitindo na amostra 4 (placebo) a cetirizina e na amostra 5 (placebo) a cetirizina e os parabenos na preparação.

4.1.6. EQUIPAMENTOS

Foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Máquina de compressão rotativa de 10 punções, marca Riva –

Modelo Picola (punções de 7mm);

- Espectrofotômetro Beckman DU Serie 70 provido de impressora, com cubetas de quartzo e caminho ótico de 1cm;
- Espectroscópio infravermelho FITIR Bomem MB- Series;
- Aparelho de determinação de Ponto de Fusão Stuart Scientific SMP1;
- Aparelho de ultra-ssom, Thornton, modelo T-14;
- Balança eletrônica Gehaka BG- 2000;
- Balões volumétricos âmbar, capacidade 25, 50, 100, 250 mL;
- Pipetas graduadas e volumétricas, capacidade 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15 e 25mL;
- Beckers de 20 e 50mL;
- Espátula de aço inox;
- Bureta âmbar de 25 e 50 mL.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. IDENTIFICAÇÃO

Os Testes para identificação do dicloridrato de cetirizina como matéria prima foram realizados conforme os procedimentos descritos na Farmacopéia Européia 3^a ed.²¹.

4.2.2. METODOLOGIA ANALÍTICA

4.2.2.1. ESPECTROFOTOMETRIA NO UV

4.2.2.1.1. PARÂMETROS ESTABELECIDOS

Para padronização do método foram fixados os seguintes parâmetros:

- a. Solvente : solução de ácido clorídrico 0,1N;
- b. Velocidade de varredura do espectro de absorção: 300 nm/min;
- c. Assentamento das ordenadas: 0,00 - 1,00;
- d. Intervalo de varredura do espectro derivado: 210 - 350 nm;
- e. Concentração analítica: 6,0 µg/mL e 24,0 µg/mL.

4.2.2.1.2. CONSTRUÇÃO DA CURVA DE RINGBOM

Para construção da curva de Ringbom foram pesados exatamente cerca de 50,0mg de dicloridrato de cetirizina padrão, que foram transferidas para balão volumétrico âmbar de 100mL e foi adicionada uma quantidade suficiente de HCl 0.1N para dissolução com o auxílio de ultra-ssom por três minutos, e em seguida, completou-se o volume com o mesmo solvente, obtendo-se solução com concentração de 500,0µg/mL. A seguir, transferiram-se 25mL desta primeira solução para balão volumétrico âmbar de 250mL e completou-se o volume com HCl 0,1N, obtendo-se uma solução de concentração analítica de 50,0µg/mL de dicloridrato de cetirizina.

Desta solução foram transferidas 20 alíquotas cujos volumes variavam entre 1,0 a 20,0mL para balões volumétricos âmbar de 25mL. Os volumes destes balões foram completados com solução de HCl 0,1N, obtendo-se assim soluções com intervalo de concentração variável entre 2,0 e 40,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina.

As leituras das absorbâncias foram efetuadas a 231nm, após o aparelho ter sido calibrado com solução de HCl 0,1N utilizado como branco. A partir dos resultados obtidos construiu-se a curva de Ringbom.

4.2.2.1.3. CONSTRUÇÃO DA CURVA DE CALIBRAÇÃO

As leituras das absorbâncias determinadas no intervalo de concentração entre 6,0 e 24,0 μ g/mL de cetirizina, faixa de concentração onde a lei de Lambert-Beer é obedecida, foram utilizadas para construção da curva de calibração. Calcularam-se o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação através do método dos mínimos quadrados.

4.2.2.1.4. PESQUISA DE INTERFERENTES NOS EXCIPIENTES

Comprimidos

Este teste foi realizado analisando soluções preparadas a partir da amostra simulada 1 e de seu placebo (amostra simulada 2), obtendo-se concentrações de 10,0; 15,0 e 20,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina e

quantidades de excipientes equivalentes à amostra simulada 1. A finalidade desta pesquisa foi observar o grau de interferência dos excipientes na determinação, na medida em que estes aumentavam na preparação.

a. Preparação dos Padrões:

Foram pesados exatamente, cerca de 25,0mg de dicloridrato de cetirizina e transferidos para balão volumétrico âmbar de 250mL. Adicionou-se q.s. de HCl 0,1N até a dissolução, completando-se o volume com o mesmo solvente. Desta solução foram transferidas alíquotas de 10, 15 e 20mL para balão volumétrico âmbar de 100mL, completando-se o volume com HCl 0,1N. Obteve-se concentrações finais de 10,0; 15,0 e 20,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina.

b. Preparação da amostra simulada 1 e amostra 2 (placebo):

Foi pesado do pó de 20 comprimidos, previamente triturados, o equivalente a 10,0mg de dicloridrato de cetirizina a partir da amostra simulada (1), transferiu-se para balão volumétrico âmbar de 100mL. Adicionaram-se aproximadamente 50mL de solução de ácido clorídrico 0,1N e agitou-se por 15min. O volume foi completado com o mesmo solvente obtendo-se uma solução de concentração de 100,0 μ g/mL. A solução foi filtrada rejeitando-se os primeiros 5mL do filtrado e desta transferiram-se alíquotas de 5 e 10mL para balões volumétricos âmbar de 50mL e outra alíquota de 15mL para balão volumétrico âmbar de 100mL. As concentrações analíticas foram de 10,0 ; 15,0 e 20,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina.

Para o preparo da amostra 2 (placebo) foi pesada quantidade equivalente de pó, àquele empregado para o preparo da amostra 1 e procedeu-se como no item anterior.

Após homogeneização das soluções preparadas nos item a e b e calibração do aparelho com o branco HCl 0,1N, determinaram-se os espectros de absorção das soluções entre 210 e 350nm. Realizou-se, também, uma sobreposição do espectro padrão, amostra simulada 1 e amostra 2 (placebo) em cada uma das concentrações preparadas para observação da interferência dos excipientes na determinação.

Xarope

Foram preparadas e determinadas espectrofotometricamente soluções com as amostras 3, 4 e 5 para observar interferência do veículo.

a. Preparação do padrão:

Foi preparado um padrão de 15,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina conforme item 4.2.2.1.4.a para comprimidos.

b. Preparação da amostra simulada 3:

Foram transferidos 15mL da amostra simulada 3 para balão volumétrico âmbar de 100mL. Adicionaram-se 50mL de HCl 0,1N, agitou-se por 15 minutos, completou-se o volume com o mesmo solvente e agitou-se ainda por 10

minutos. Transferiu-se uma alíquota de 5mL para balão volumétrico âmbar de 50mL e completou-se o volume com HCl 0,1N. Obteve-se uma solução com concentração final de 15,0 μ g/mL do dicloridrato de cetirizina.

c. Preparação das amostras 4 e 5 (placebos):

Para preparo destas amostras (4 e 5) foram medidas quantidade de amostra 4 e 5 equivalente à de veículo contido na amostra 3 para preparo de uma solução de 15,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina como no item anterior.

d. Preparação da amostra simulada 3 e amostra 4 (placebo) , após extração:

Foram transferidos 10mL da amostra simulada 3 equivalentes a 10,0mg de cetirizina para um funil de extração âmbar de 250mL; a extração dos adjuvantes interferentes realizou-se com três porções (40, 30, e 30mL) de clorofórmio. Desprezou-se o extrato de clorofórmio, recolhendo-se a parte aquosa num balão volumétrico âmbar de 100mL. Adicionou-se HCl 0,1N até completar dissolução, agitou-se ainda por 10minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Transferiu-se uma alíquota de 15mL para balão volumétrico âmbar de 100mL e completou-se o volume com HCl 0,1N. Obteve-se uma solução com concentração final de 15,0 μ g/mL do dicloridrato de cetirizina.

Para o preparo da amostra 4 (placebo) foi medida quantidade de solução equivalente a de excipiente contido na amostra 3 e procedeu-se com no item anterior.

Após a homogeneização das soluções preparadas nos itens anteriores e calibração do aparelho com o branco (HCl 0,1N), determinou-se o espectro de absorção das soluções entre 210 e 350nm. Foi realizada a sobreposição dos espectros do padrão; amostra 3 e amostra 4 após extração com clorofórmio para observar a interferência dos excipientes na determinação.

4.2.2.1.5. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NA AMOSTRA SIMULADA 1 E COMERCIAIS A, B, C e D

a. Preparação do padrão:

Foi utilizado como padrão a media aritmética das leituras de três soluções padrão preparada na concentração de 15,0 μ g/mL como descrito no item 4.2.2.1.4.a. para comprimidos.

b. Preparação da amostra simulada 1 e comerciais A, B, C e D:

A amostra simulada e comerciais foram preparadas em concentrações de 15,0 μ g/mL de acordo com o descrito no item 4.2.2.1.4.b. para comprimidos.

Foram determinadas cada uma das dez amostras. Os resultados foram analisados estatisticamente.

4.2.2.1.6. TESTE DE RECUPERAÇÃO

a. Preparação do padrão:

Preparou-se a solução padrão de dicloridrato de cetirizina na concentração de 100,0 μ g/mL conforme no item 4.2.2.1.4.a. para comprimidos.

b. Preparação das amostras:

Prepararam-se soluções da amostra simulada 1 e comerciais A, B, C,D, nas concentrações de 100,0 μ g/mL conforme o descrito no item. 4.2.2.1.4.b. para comprimidos.

c. Procedimento:

Transferiram-se alíquotas das amostras e da solução padrão para balões volumétricos âmbar de 100mL conforme o procedimento que segue:

Balões	Solução Padrão 100 µg/mL (mL)	Solução Amostra 1, A, B, C, D 100 µg/mL (mL)
1	10,0	-
2	-	10,0
3	2,0	10,0
4	6,0	10,0
5	10,0	10,0

Completo-se o volume dos balões com HCl 0,1N. Após homogeneização foram realizadas as leituras das absorvâncias a 231nm utilizando como branco HCl 0,1N.

4.2.2.2. ESPECTROFOTOMETRIA DERIVADA

4.2.2.2.1. PARÂMETROS ESTABELECIDOS

Para padronização do método foram fixados os seguintes parâmetros:

- Solvente : solução de ácido clorídrico 0,1N;
- Ordem da derivada: 1^a ordem;
- Delta Lambda ($\Delta\lambda$): 2nm;
- Velocidade de varredura do espectro de absorção: 300nm/min;
- Assentamento das ordenadas: $\pm 0,1$;
- Intervalo de varredura do espectro derivado: 210 - 350nm;

- g. Concentração analítica: 5,0 μ g/mL a 25,0 μ g/mL;
- h. Método de determinação quantitativa: método zero- pico (comprimidos);
método zero-crossing (xarope).

4.2.2.2.2. CONSTRUÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO

Com a finalidade de determinar a curva de calibração foi preparada uma solução estoque de 50,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina. Desta solução foram transferidas 5 alíquotas, cujos volumes variavam entre 5 e 25mL para balões volumétricos âmbar de 50mL. Os volumes destes balões foram completados com solução de ácido clorídrico 0,1N, obtendo-se assim, soluções com intervalo de concentração variável entre 5,0 μ g/mL e 25,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina. Após o aparelho ter sido calibrado com solução de ácido clorídrico 0,1N, realizou-se a varredura das soluções no intervalo de 210 e 350nm, e a partir destes espectros traçaram-se as derivadas de 1^a ordem.

Foram determinados o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação para ambas curvas. Os cálculos foram efetuados pelo método dos mínimos quadrados.

4.2.2.2.3. PESQUISA DE INTERFERENTES NOS EXCIPIENTES

Comprimidos

a. Preparação dos Padrões:

Procedeu-se ao preparo das soluções padrões de 10,0; 15,0 e 20,0 μ g/mL conforme o item 4.2.2.1.4.a. para comprimidos.

b. Preparação da amostra simulada 1 e amostra 2 (placebo):

As amostras 1 e 2 em concentrações equivalentes de 10,0; 15,0 e 20,0 μ g/mL foram preparadas conforme ao item 4.2.2.1.4.b. para comprimidos.

Após a homogeneização das soluções preparadas nos item a e b realizou-se varredura das soluções entre 210 e 350nm, depois da calibração do aparelho com o branco HCl 0,1N.

Realizou-se sobreposição do espectro padrão e dos espectros das amostra 1 e 2 em cada uma das concentrações preparadas.

Xarope

Determinação da cetirizina no ponto de anulação dos parabenos (método zero-crossing). Foram preparadas as seguintes soluções:

a. Preparação do Padrão:

Foi preparada uma solução padrão de concentração de 15,0 μ g/mL conforme o item 4.2.2.1.4.a. para comprimido.

b. Preparação da amostra 5 (placebo):

Procedeu-se ao preparo desta amostra conforme no item 4.2.2.1.4.c. para xarope.

Determinou-se o espectro derivado de primeira ordem das soluções preparadas nos item a e b.

c. Preparação da amostra 4 (placebo):

Foi medida quantidade de amostra 4 equivalente a de veículo contido na amostra simulada 3 para preparo de cinco soluções contendo concentrações de excipientes proporcionais a 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 25,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina.

Determinou-se o espectro derivado de primeira ordem de cada uma destas soluções.

d. Preparação da amostra simulada 3:

Foi preparada esta amostra conforme ao item 4.2.2.1.4.b. para xarope.

Realizou-se sobreposição dos espectros derivados da solução padrão e da solução da amostra simulada 3 contendo 15,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina, para determinar o melhor comprimento de onda para sua determinação.

4.2.2.2.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NAS AMOSTRAS SIMULADA 1 E 3 E COMERCIAIS A, B, C, D e E

Comprimidos

a. Preparação do padrão:

Foi utilizado como padrão a média aritmética das leituras de três soluções com concentrações de 15,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina preparadas como descrito no item 4.2.2.1.4.a. para comprimidos.

b. Preparação da amostra simulada 1 e comerciais A, B,C e D:

Foram pesados os equivalentes a 10,0mg de dicloridrato de cetirizina das amostras 1, A,B,C e D (comprimidos) e procedeu-se a determinação das dez soluções de 15,0 μ g/mL do dicloridrato de cetirizina realizando as leituras a 238,75nm, utilizando o método zero-pico. Os resultados foram analisados estatisticamente.

Xarope

a. Preparação do padrão:

Foi utilizado como padrão a média aritmética das leituras de três soluções com concentrações de 15,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina preparadas como descrito no item 4.2.2.1.4.a. para xarope.

b. Preparação da amostra simulada 3 e comercial E:

Foram medidos os equivalentes a 15,0mg de dicloridrato de cetirizina das amostras 3 e E e procedeu-se a determinação das dez soluções de 15,0 μ g/mL do dicloridrato de cetirizina realizando as leituras a 225nm, utilizando o método zero-crossing (ponto de anulação dos parabenos). Os resultados foram analisados estatisticamente.

4.2.2.2.5. TESTE DE RECUPERAÇÃO

Comprimidos

a. Preparação do padrão:

Preparou-se a solução padrão de dicloridrato de cetirizina na concentração de 100,0 μ g/mL conforme no item 4.2.2.1.4.a.

b. Preparação das amostras simulada 1 e comerciais A, B, C e D:

Prepararam-se soluções das amostras simulada 1 e comerciais A, B, C, e D nas concentrações de 100,0 μ g/mL conforme o descrito no item. 4.2.2.1.4.b.

c. Procedimento:

Transferiram-se alíquotas das amostras e da solução padrão para balões volumétricos âmbar de 100mL conforme o procedimento seguido no teste de recuperação do item 4.2.2.1.6.c.

Completou-se o volume dos balões com HCl 0,1N. Após homogeneização foram realizadas as leituras das absorbâncias a 231nm e as amplitudes na primeira derivada a 238,75nm.

Xarope:**a. Preparação do padrão:**

Preparou-se a solução padrão de dicloridrato de cetirizina na concentração de 100,0 μ g/mL conforme no item 4.2.2.1.4.a para xarope.

b. Preparação da amostra simulada 3 e comercial E:

Prepararam-se soluções das amostras simuladas 3 e comercial E nas concentrações de 100,0 μ g/mL conforme o descrito no item. 4.2.2.1.4.b. para xarope.

c. Procedimento:

Transferiram-se alíquotas das amostras e da solução padrão para balões volumétricos âmbar de 100mL conforme o procedimento seguido no teste de recuperação do item 4.2.2.1.6.c.

Completo-se o volume dos balões com HCl 0,1N. Após homogeneização foram realizadas as leituras das absorbâncias a 231nm e as amplitudes na primeira derivada a 225nm.

5. RESULTADOS

5.1. IDENTIFICAÇÃO

5.1.1. ESPECTRO NO INFRAVERMELHO

O espectro de absorção no infravermelho do dicloridrato de cetirizina encontra-se na Figura 6.

5.1.2. ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA

A Figura 7 apresenta o espectro de absorção no ultravioleta do dicloridrato de cetirizina.

5.1.3. REAÇÃO QUÍMICA

Quantidade de dicloridrato de cetirizina equivalente a 2,0 mg de cloreto, após acidificação com ácido nítrico diluído e reação com nitrato de prata produziu um precipitado branco, de acordo com o especificado pela Farmacopéia Européia 3ª ed. item 2.3.1.a²¹.

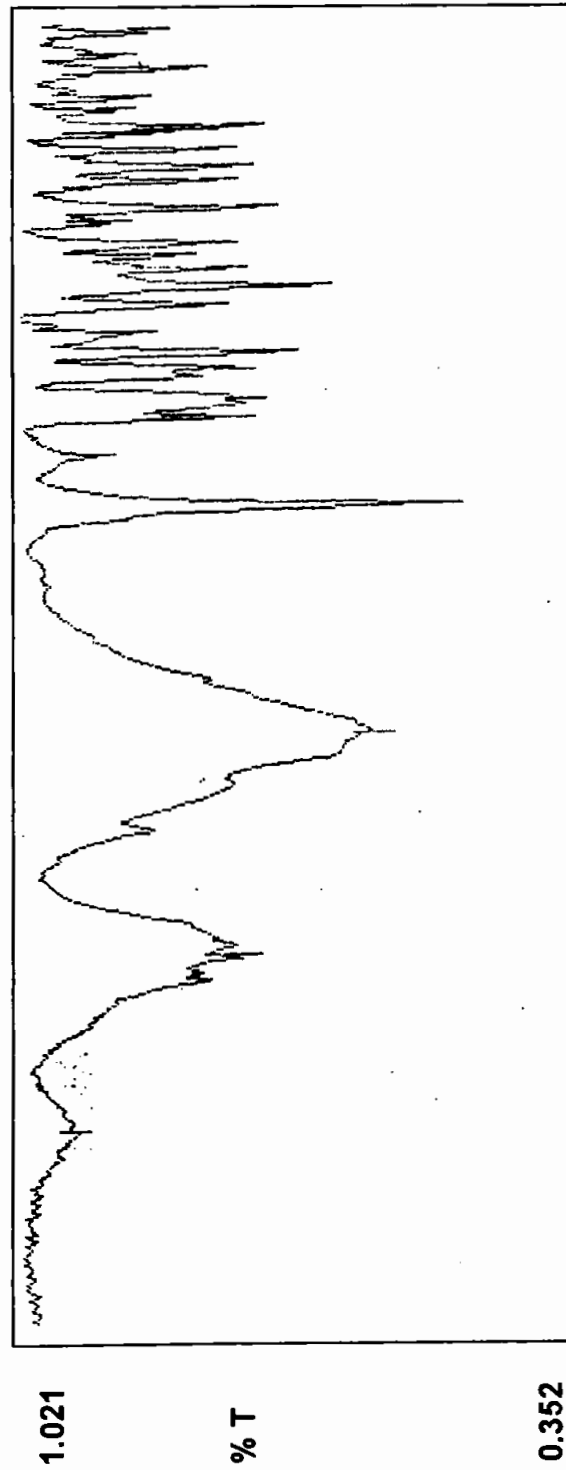


Figura 6. Espectro no infravermelho do dicloridrato de cetirizina, (pastilha de KBr).

Picos principais (Comprimentos de onda - cm^{-1})

719,54	1019,98	1760,26
758,09	1091,51	2371,30
920,00	1496,24	3451,41.

4003

396

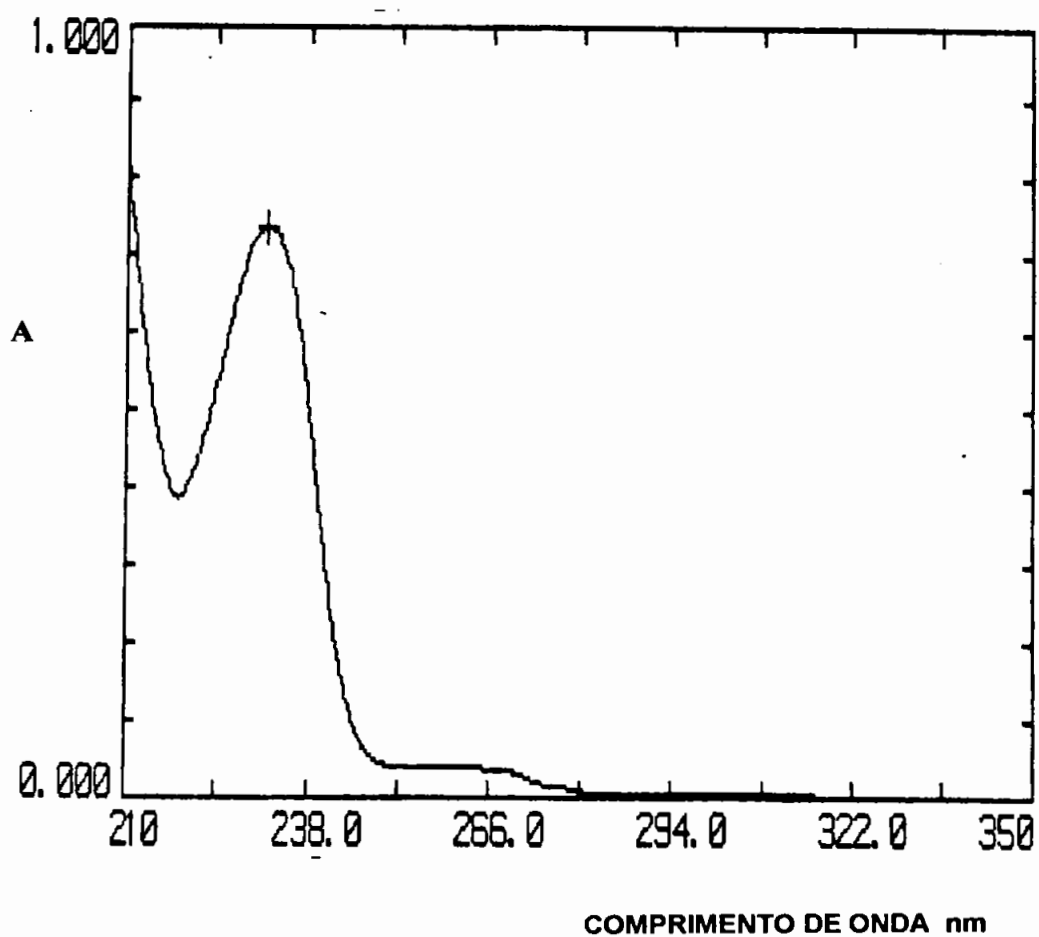


Figura 7. Espectro de absorção no ultravioleta da solução de dicloridrato de cetirizina ($20,0\mu\text{g/mL}$) em ácido clorídrico $0,1\text{N}$, pico máximo em 231nm .

5.2. METODOLOGIA ANALÍTICA

5.2.1. ESPECTROFOTOMETRIA NO UV

5.2.1.1. CURVA DE RINGBOM

Tabela 2: Resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom do dicloridrato de cetirizina em HCL 0,1 N pelo método espectrofotométrico direto a 231nm. Intervalo de concentração 2,0 a 40,0 μ g/mL.

Balão	Concentração μ g/mL	Absorbância	Transmitância %T	100 - T	Log C
1	2,0	0,0761	83,93	16,07	0,30
2	4,0	0,154	70,15	29,85	0,60
3	6,0	0,237	57,94	42,06	0,78
4	8,0	0,315	48,42	51,58	0,90
5	10,0	0,391	40,64	59,36	1,00
6	12,0	0,466	34,20	65,80	1,08
7	14,0	0,551	28,12	71,88	1,15
8	16,0	0,624	23,77	76,23	1,20
9	18,0	0,693	20,28	79,72	1,26
10	20,0	0,767	17,10	82,90	1,30
11	22,0	0,850	14,12	85,87	1,34
12	24,0	0,919	12,05	87,95	1,38
13	26,0	0,986	10,33	89,67	1,41
14	28,0	1,062	8,67	91,33	1,45
15	30,0	1,143	7,19	92,81	1,48
16	32,0	1,215	6,10	93,90	1,50
17	34,0	1,285	5,19	94,81	1,53
18	36,0	1,353	4,44	95,56	1,56
19	38,0	1,433	3,69	96,31	1,58
20	40,0	1,498	3,18	96,82	1,60

A representação da curva de Ringbom poder ser visualizada na Figura8.

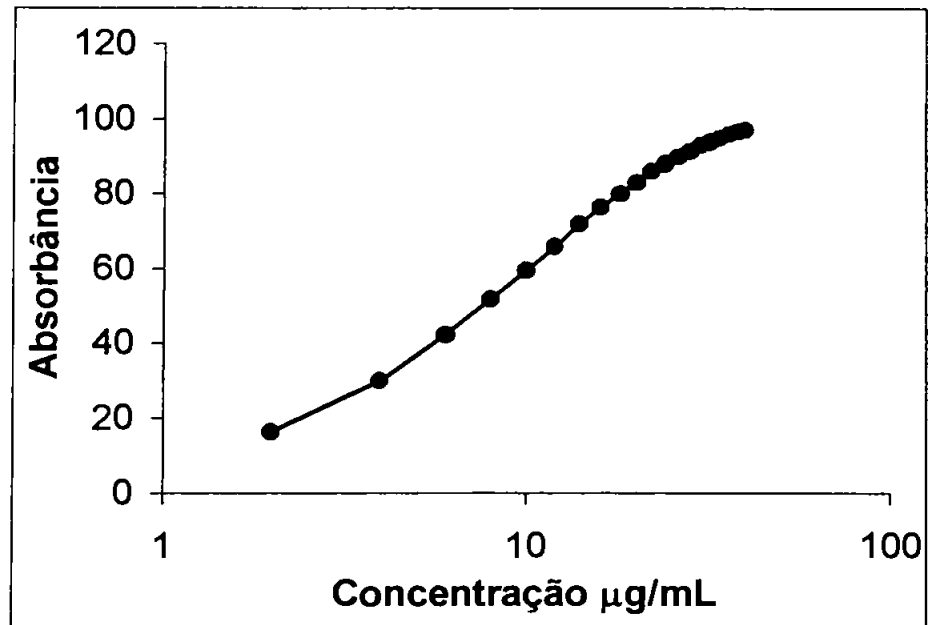


Figura 8. Curva de Ringbom obtida pelo método espectrofotométrico no ultravioleta. Concentração das soluções: 2,0 a 40,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1N. Leituras efetuadas a 231nm.

5.2.1.2. CURVA DE CALIBRAÇÃO

A curva de calibração para determinação da cetirizina foi construída no intervalo de 6,0 a 24,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina em solução de ácido clorídrico 0,1N. A Tabela 3 apresenta os dados obtidos nesta determinação e a Figura 9 apresenta o gráfico destes resultados.

Tabela 3: Absorbâncias obtidas na determinação da curva de calibração do dicloridrato cetirizina em HCl 0,1N. Intervalo de concentração de 6,0 a 24,0 $\mu\text{g/mL}$.

Concentração $\mu\text{g/mL}$	Absorbância
6,0	0,237
8,0	0,315
10,0	0,391
12,0	0,466
14,0	0,551
16,0	0,624
18,0	0,693
20,0	0,767
22,0	0,850
24,0	0,919

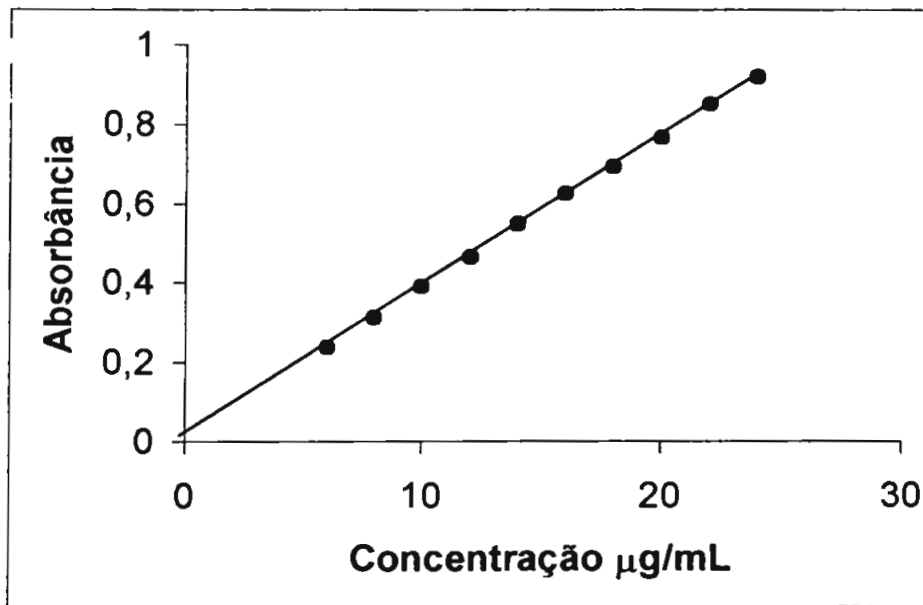


Figura 9. Curva de calibração da cetirizina obtida pelo método espectrofotométrico a 231nm.

Tabela 4: Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico a 231 nm. Intervalo de Concentração 6,0 a 24,0µg/mL.

	λ_{\max}	a	b	r	Se _R	ta
Dicloridrato cetirizina	231 nm	0,01235	0,03793	0,9999	0,71%	0.0003652

Equação da curva $y = a + b x$

a = intersecção da reta

b = coeficiente angular

r = coeficiente de correlação

Se_R = erro padrão relativo da estimativa

ta = teste de significância de a

5.2.1.3. PESQUISA DE INTERFERENTES NOS EXCIPIENTES

Comprimidos:

A influência dos excipientes foi investigada através da aplicação do método espectrofotométrico no ultravioleta na amostra simulada 1 e na amostra 2 (placebo) em concentrações equivalentes a 10,0 ; 15,0 e 20,0µg/mL de dicloridrato de cetirizina. Foi realizada a sobreposição do espectro padrão, da amostra 1 e amostra 2 nas diferentes concentrações (Figura 10). Observou-se que, com aumento da concentração de excipientes na preparação, aumenta a

interferência na determinação. A concentração analítica escolhida para doseamento da cetirizina nas amostras foi de $15,0\mu\text{g/mL}$ por apresentar uma absorbância dentro da faixa de menor erro espectrofotométrico e não apresentar interferência dos excipientes na determinação.

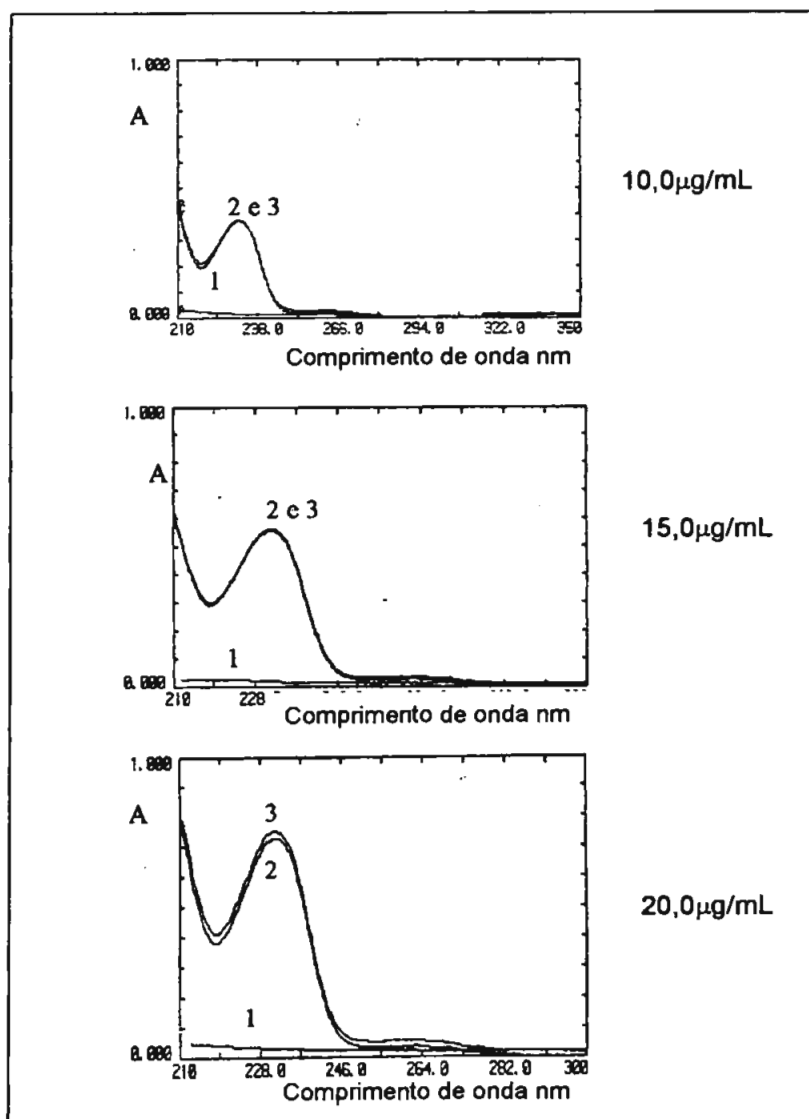


Figura 10. Sobreposição de curvas de absorção no ultravioleta.

- 1 Amostra 2 (placebo)
- 2 Padrão ($10,0$; $15,0$ e $20,0\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina).
- 3 Amostra simulada 1 ($10,0$; $15,0$ e $20,0\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina).

Solvente: Solução de ácido clorídrico $0,1\text{N}$.

Xarope:

Para observar a interferência dos excipientes na determinação foi determinado o espectro de absorção ultravioleta da solução de 15,0µg/mL de dicloridrato de cetirizina preparada a partir da amostra simulada 3, observando-se um pico a 234,25nm da cetirizina e outro a 255,25nm (Figura 11).

Para a confirmação de que o pico obtido a 255,25nm correspondia aos parabenos foi preparada a solução a partir da amostra 5 (placebo) a qual exclui os parabenos. Observou-se que através de todo o espectro (Figura 12) a absorbância foi menor de 0,02.

Posteriormente foi determinada uma solução preparada a partir da amostra 4 (placebo) contendo os parabenos, também em concentrações de excipientes equivalentes a amostra 3 isto é uma concentração de 15,0µg/mL de dicloridrato de cetirizina, obtendo-se a absorbância de 1,383 no pico máximo a 255,25nm (Figura 13). Estes resultados confirmam que a interferência dos excipientes na determinação é causada principalmente pelos parabenos presentes na preparação.

Tentou-se eliminar esta interferência extraído com clorofórmio²¹ os parabenos da solução anteriormente preparada. O espectro de absorção da Figura 14 apresenta o resultado desta extração obtendo-se absorbância de 0,013 a 231nm (comprimento de onda para a determinação), o que presume total eliminação deles na preparação.

A Figura 15 apresenta o espectro de absorção da amostra simulada 3 em concentração de 15,0µg/mL de dicloridrato de cetirizina após extração com clorofórmio, apresentando um pico máximo a 231nm de 0,580, absorbância equivalente à do padrão.

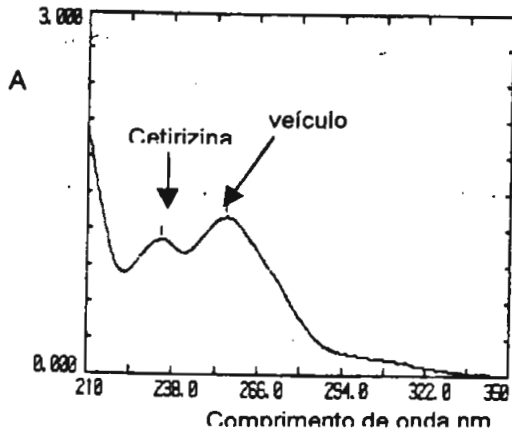


Figura 11. Espectro de absorção ultravioleta da solução preparada a partir da amostra simulada 3. Concentração de 15,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina.

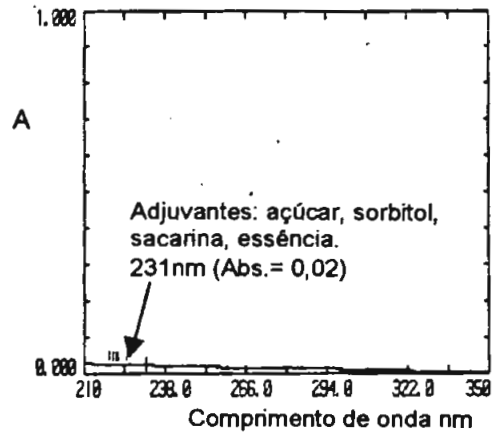


Figura 12. Espectro de absorção ultravioleta da solução preparada a partir da amostra 5 (placebo). Concentração equivalente a 15,0µg/mL de cetirizina 2HCl.

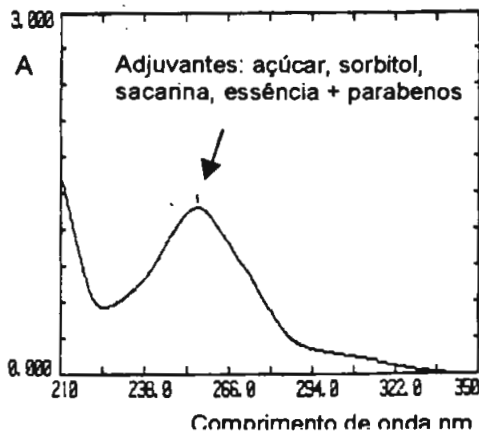


Figura 13. Espectro de absorção ultravioleta da solução preparada a partir da amostra 4 (placebo). Concentração equivalente a 15,0µg/mL de dicloridrato de cetirizina.

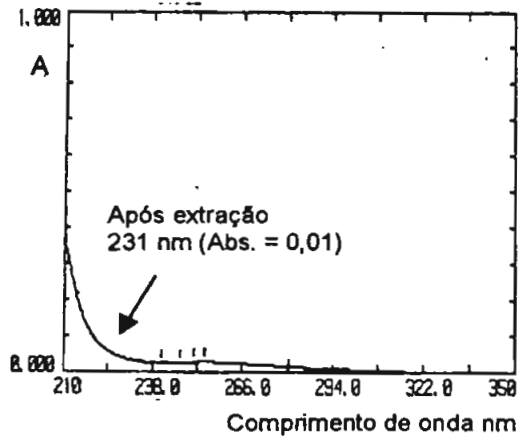


Figura 14. Espectro de absorção ultravioleta da solução preparada a partir da amostra 4 (placebo) após extração com clorofórmio. Veículo equivalente a 15,0µg/mL de dicloridrato de cetirizina da amostra 1.

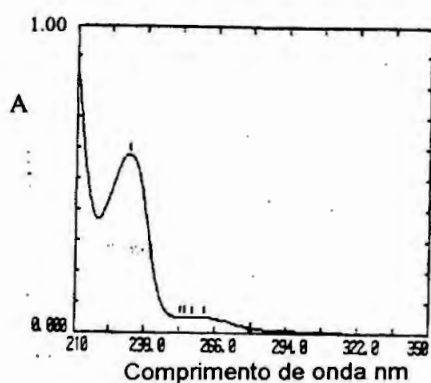


Figura 15. Espectro de absorção ultravioleta da solução preparada a partir da amostra simulada 3, após extração com clorofórmio. Concentração de $15,0\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina.

Foi realizada a sobreposição dos espectros das soluções: padrão, amostra simulada 3 e amostra 4 (placebo) em concentrações equivalentes a $15,0\mu\text{g/mL}$ de cetirizina, após extração com clorofórmio. A Figura 16 apresenta a sobreposição destes espectros. Observando-se ainda interferência dos excipientes na determinação. Este método não foi empregado na determinação das amostras.

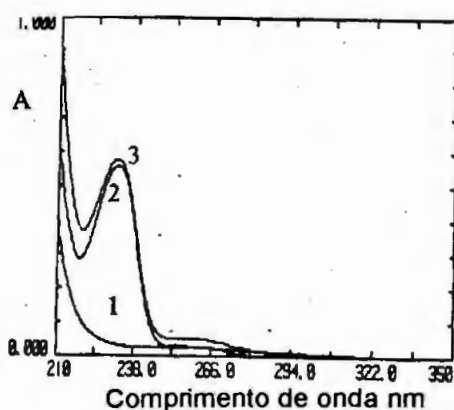


Figura 16. Sobreposição de curvas de absorção no ultravioleta Soluções 1 e 3 depois de serem extraídas com clorofórmio.
1. Amostra 4 (placebo)
2. Padrão ($15,0\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina).
3. Amostra 3 ($15,0\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina).
Solvente: Solução de ácido clorídrico $0,1\text{N}$.

5.2.1.4 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NA AMOSTRA SIMULADA 1 e COMERCIAIS A, B, C e D

Nas tabelas 5 e 6 apresentam-se os resultados e o respectivo tratamento estatístico, obtido pelo método espectrofotométrico no ultravioleta aplicado para a determinação do dicloridrato de cetirizina na amostra simulada 1 e comerciais A, B, C e D (comprimidos). Leitura a 231nm.

Tabela 5: Resultados obtidos na determinação de teor de dicloridrato de cetirizina em comprimidos pelo método espectrofotométrico no ultravioleta na amostra simulada 1 e comerciais A, B, C e D.

Amostras	Valor rotulado de dicloridrato de cetirizina (mg/comp.)	Valor encontrado* de dicloridrato de cetirizina (mg/comp.)	Teor Percentual (%)
1	10,00	10,10	101,03
A	10,00	10,88	108,81
B	10,00	9,60	96,00
C	10,00	10,27	102,67
D	10,00	10,33	103,33

*Media de dez determinações.

Tabela 6: Análise estatística dos resultados obtidos na determinação do dicloridrato de cetirizina em comprimidos em amostra simulada 1 e comerciais A, B, C e D.

Amostra	Desvio padrão	Coeficiente de variação (%)	Intervalo de confiança P=95%
1	0,02	0,22	101,03± 0,02
A	0,06	0,39	108,81± 0,05
B	0,04	0,33	96,00± 0,03
C	0,10	0,65	102,67 ± 0,07
D	0,11	0,71	103,33 ± 0,07

5.2.1.3. TESTE DE RECUPERAÇÃO

Os resultados da recuperação do dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico no ultravioleta efetuados na amostra simulada 1 e comerciais A, B, C e D, podem ser observados na tabela 7.

Tabela 7: Resultados obtidos no teste de recuperação do dicloridrato de cetirizina no ultravioleta das amostras simulada 1 e comerciais A, B, C e D.

Amostras	Quantidade ($\mu\text{g/mL}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Recuperada	
1	2,00	1,98	99,23
	6,00	5,99	99,81
	10,00	10,08	100,82
A	2,00	2,01	100,55
	6,00	6,04	100,72
	10,00	9,94	99,40
B	2,00	2,00	100,00
	6,00	5,91	98,53
	10,00	10,00	100,00
C	2,00	2,02	101,00
	6,00	6,10	101,67
	10,00	9,90	99,00
D	2,00	2,00	100,08
	6,00	6,00	100,02
	10,00	10,01	100,10

5.2.2. ESPECTROFOTOMETRIA DERIVADA

5.2.2.1. CURVA DE CALIBRAÇÃO

Construiu-se a curva de calibração no intervalo de concentração em que as absorbâncias do dicloridrato de cetirizina no ultravioleta obedecem a lei de Lambert e Beer. Os resultados obtidos podem ser vistos nas tabelas 8 e 9 e figuras 17, 18 e 19.

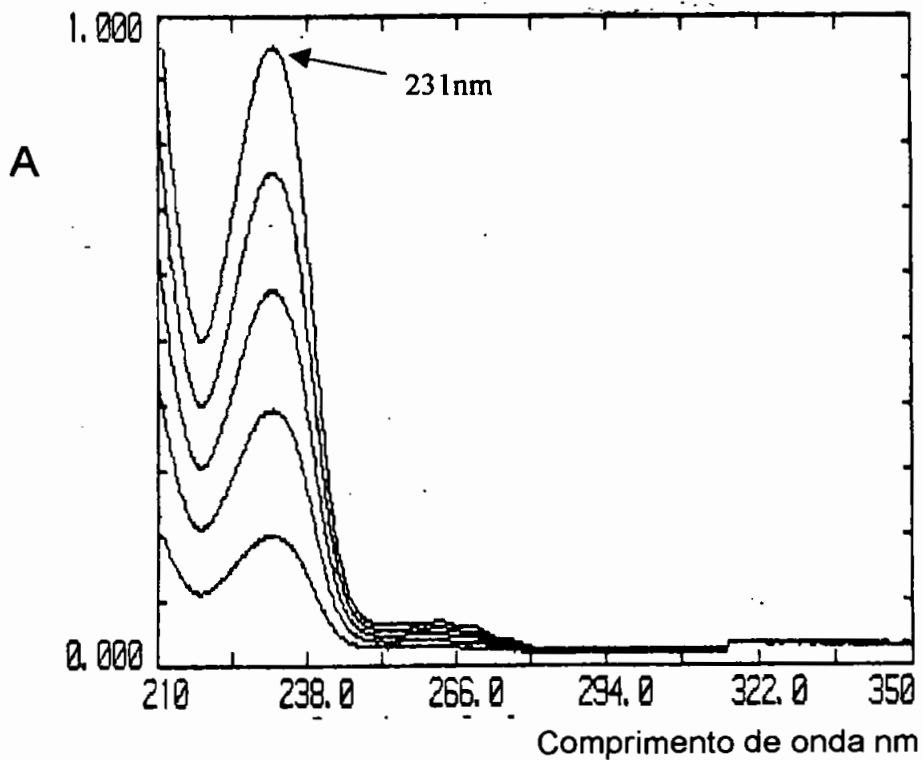


Figura 17. Sobreposição dos espectros de absorção da curva de calibração no ultravioleta do dicloridrato de cetirizina. 5,0 – 25,0 μ g/mL em HCl 0,1N.

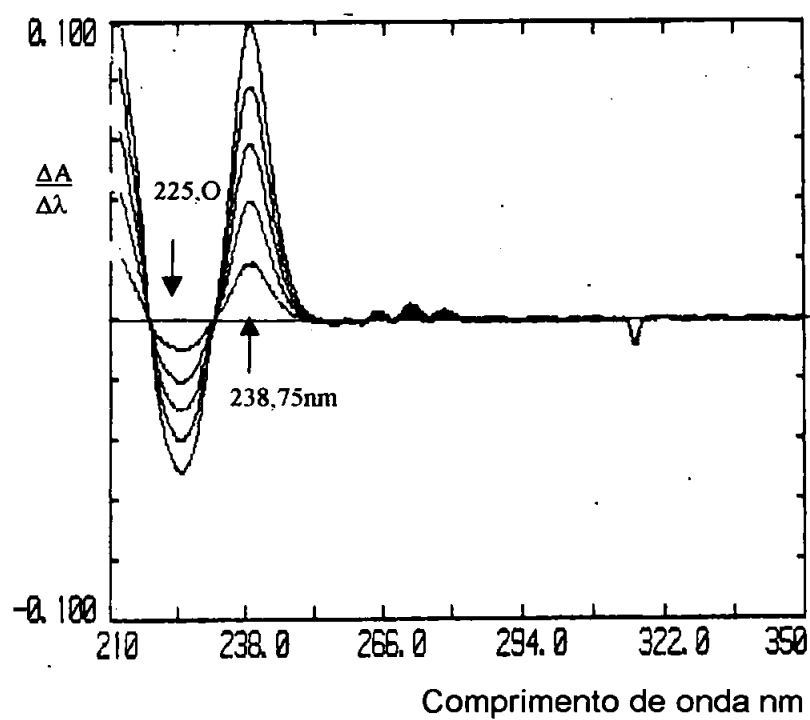


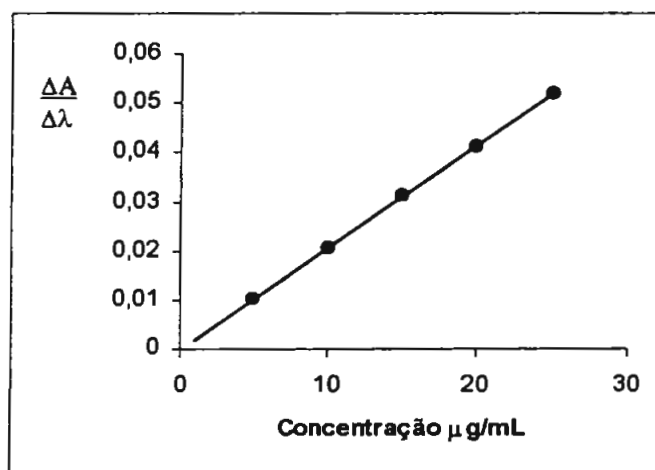
Figura 18. Sobreposição de derivadas de 1ª ordem da reta de calibração do dicloridrato de cetirizina (5,0 a 25,0 $\mu\text{g/mL}$ em ácido clorídrico 0,1N).

Tabela 8: Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina. Leituras efetuadas na primeira derivada a 225nm e a 238,75nm. Intervalo de concentração 5,0 a 25,0 μ g/mL.

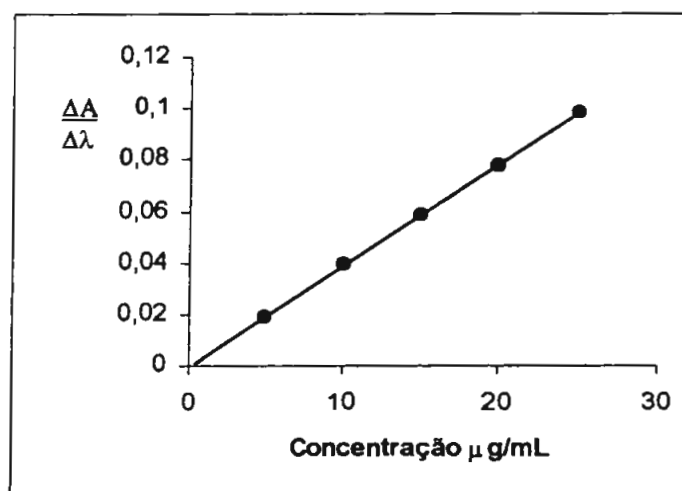
Concentração de Cetirizina (μ g/mL)	$\Delta A/\Delta \lambda$ a 225,0 nm	$\Delta A/\Delta \lambda$ a 238,75 nm
5,0	0,0104	0,0190
10,0	0,0208	0,0397
15,0	0,0314	0,0588
20,0	0,0414	0,0778
25,0	0,0520	0,0985

Tabela 9: Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico derivado, leitura efetuada a 225nm e 238,75nm.

	λ	a	b	r	Se _R	ta
Dicloridrato de Cetirizina	225	0,00006	0,002076	0,9999	0,51	0,3426
	238,75	0,0008468	0,003907	0,9999	0,92	0,001535



A



B

Figura 19. Curvas de calibração do dicloridrato de cetirizina em HCl 0,1N a 225nm (A) e a 238,75nm (B). Concentrações entre 5,0 a 25,0 $\mu\text{g/mL}$.

5.2.2.2. PESQUISA DE INTERFERENTES NOS EXCIPIENTES

Comprimidos:

Na análise do dicloridrato de cetirizina em comprimidos, foi testada a capacidade da espectrofotometria derivada para eliminar a interferência dos excipientes, na medida em que eles aumentavam na preparação. As Figuras 20, 21 e 22, apresentam a sobreposição dos espectros em ultravioleta e derivados do padrão, amostra simulada 1 e amostra 2 (placebo) em concentrações de 10,0 ; 15,0 e 20,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Observando-se que com aplicação da derivada de primeira ordem a interferência era eliminada.

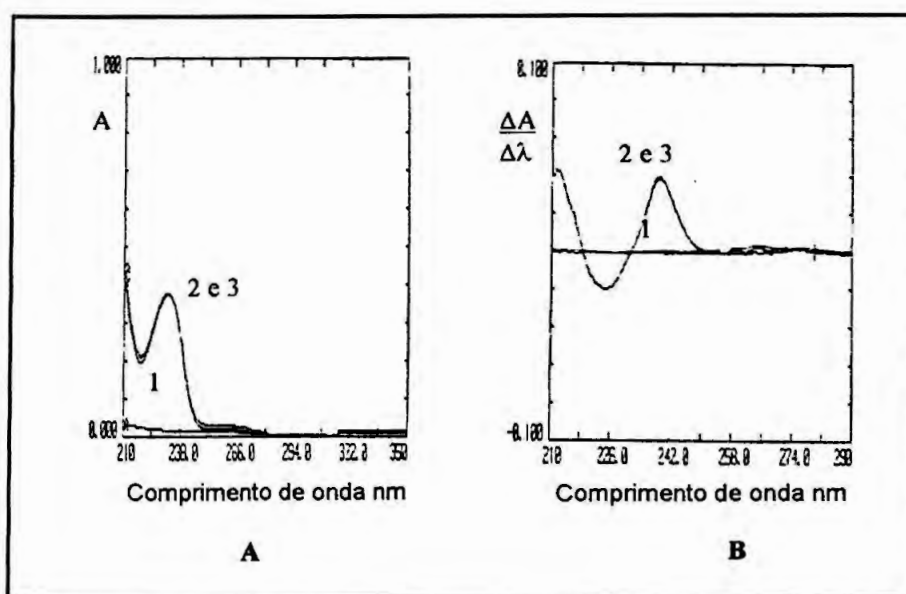


Figura 20. Sobreposição de curvas de absorção no ultravioleta (A) e derivadas (B) de primeira ordem.

1. Amostra 2 (placebo).
 2. Padrão (10,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de dicloridrato de cetirizina).
 3. Amostra simulada 1 (10,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de dicloridrato de cetirizina).
- Solvente: Solução de ácido clorídrico 0,1N.

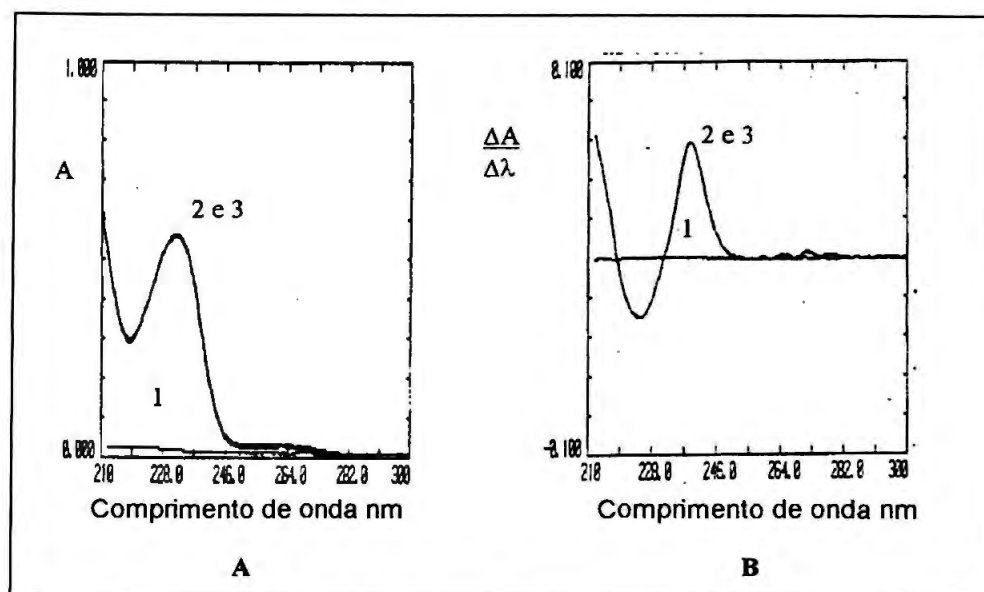


Figura 21. Sobreposição de curvas de absorção no Ultravioleta (A) e suas derivadas (B) de primeira ordem.

1. Amostra 2 (placebo)
2. Padrão (15,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina).
3. Amostra simulada 1 (15,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina).

Solvente: Solução de ácido clorídrico 0,1N.

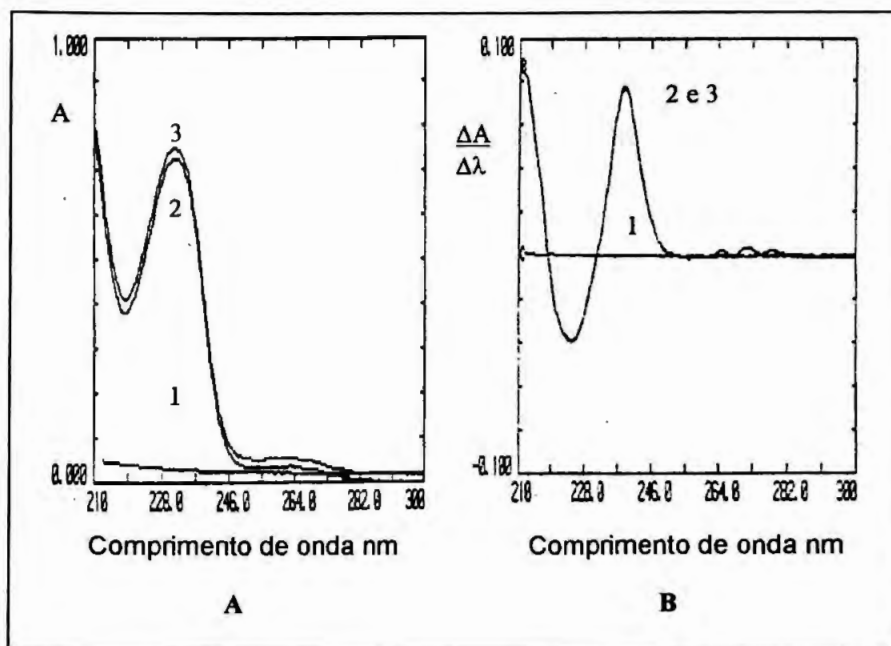


Figura 22. Sobreposição de curvas de absorção no ultravioleta (A) e suas derivadas (B) de primeira ordem.

1. Amostra 2 (placebo)
2. Padrão (20,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina).
3. Amostra simulada 1 (20,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina).

Solvente: Solução de ácido clorídrico 0,1N.

Xarope:

Procurando um método de determinação preciso e exato levou-se em consideração que a derivada de primeira ordem de 15,0µg/mL de dicloridrato de cetirizina, apresenta um vale a 225,0nm (Figura 23A) e nesse mesmo ponto a derivada de primeira ordem da amostra 4 (placebo) , contendo excipientes em concentrações proporcionais a amostra simulada 3 correspondente a 15,0µg/mL de dicloridrato de cetirizina, é anulada (Figura 23B).

Esta característica foi aproveitada para aplicação do método zero-crossing, que corresponde ao ponto de anulação dos excipientes, no qual foi determinado o dicloridrato de cetirizina.

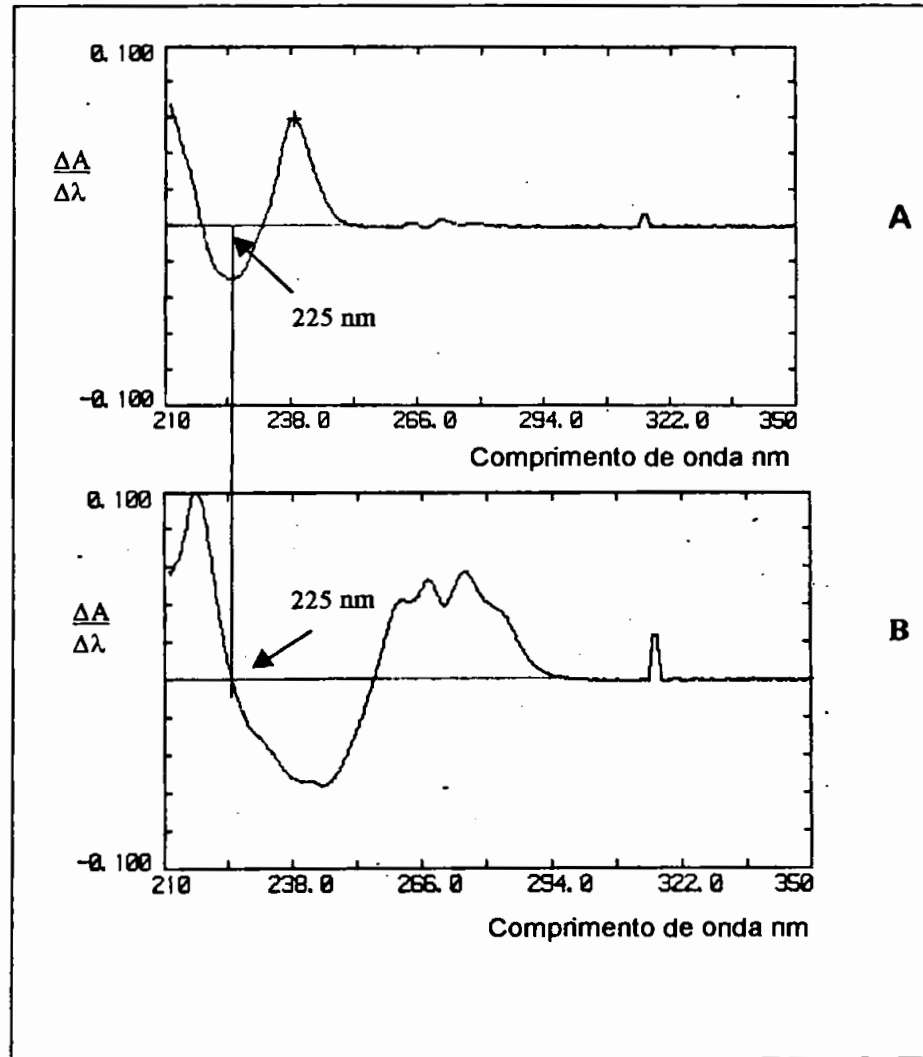


Figura 23. Espectro de primeira derivada: (A) solução de dicloridrato de cetirizina (padrão), (B) amostra 4 (placebo), em concentrações de 15,0 μ g/mL.

Foram preparadas diferentes soluções da amostra 4 (placebo) em concentrações de excipientes equivalentes à amostra simulada 3 para obter concentrações de 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 25,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina para observar se o ponto de anulação de cada uma delas era o mesmo.

Na Figura 24 observa-se que a 225,0nm as derivadas de primeira ordem destas cinco soluções se anulam. Indicando que, quando na preparação, os excipientes estão presentes nestas quantidades a cetirizina pode ser determinada a 225,0nm sem interferência na determinação.

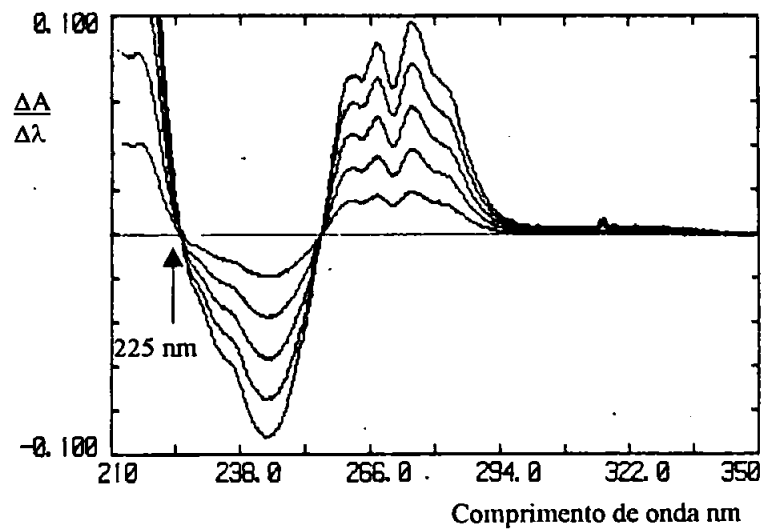


Figura 24. Sobreposição de curvas derivadas da amostra 4 (placebo) em concentrações de veículo equivalentes à amostra simulada 3 para 5,0; 10,0; 15,0; 20,0 e 25,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina. Pontos de anulação a 225,0 e 255,0nm.

Posteriormente, realizou-se a sobreposição de espectros (A) e suas derivadas (B) do padrão e da amostra simulada 3 para observar em que ponto eles são coincidentes. A Figura 25 apresenta estes resultados. Observou-se o aumento da absorbância 0,560 para absorbância 1,12 devido aos excipientes.

Com aplicação da derivação de primeira ordem (B) o espectro derivado do padrão coincide a 225nm com o espectro derivado da amostra simulada 3. Comprimento no qual o espectro derivado da solução de excipientes é anulado.

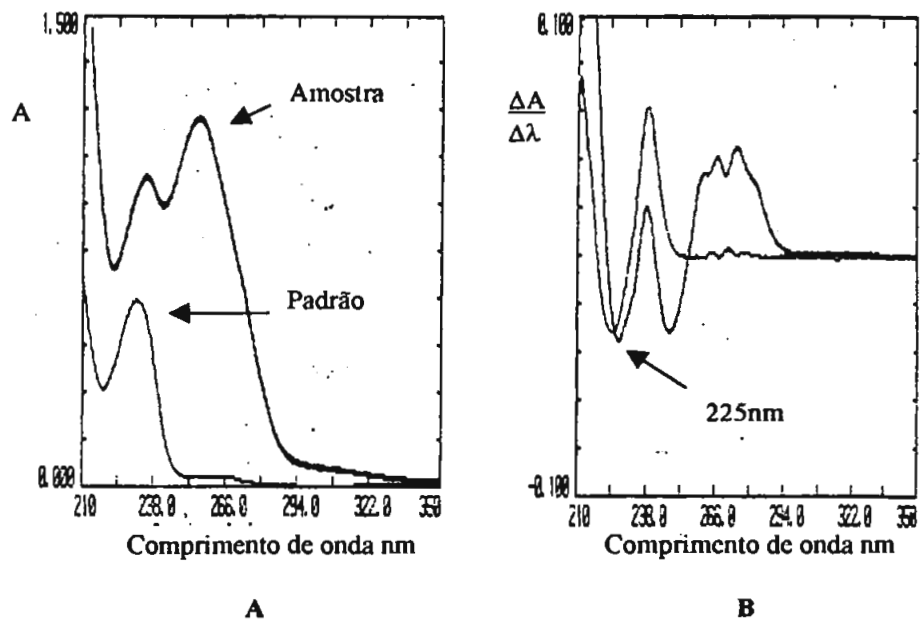


Figura 25. Sobreposição dos espectros em ultravioleta (A) e suas derivadas (B) das soluções padrão e amostra simulada 3 em concentrações de 15,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina. Solvente HCL 0,1N.

5.2.2.2. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NAS AMOSTRAS SIMULADAS 1 E 3 E COMERCIAIS A, B, C, D e E

Comprimidos

Nas tabelas 10 e 11 apresentam-se os resultados e o respectivo tratamento estatístico, obtido pelo método espectrofotométrico derivado no ultravioleta do dicloridrato de cetirizina das amostras simulada 1 e comerciais A, B, C e D. Aplicando método quantitativo zero-pico a 238,75nm.

Tabela 10: Resultados obtidos na determinação de teor de dicloridrato de cetirizina em comprimidos pelo método espectrofotométrico derivado no ultravioleta em amostra simulada 1 e comerciais A, B, C e D. Leitura a 238,75nm empregando o método zero-pico.

Amostras	Valor rotulado de dicloridrato de cetirizina (mg/ comp)	Valor encontrado* de dicloridrato de cetirizina (mg/ comp)	Teor Percentual (%)
Comprimidos			
1	10,00	9,67	96,72
A	10,00	9,97	98,67
B	10,00	9,53	95,33
C	10,00	9,53	95,34
D	10,00	9,80	98,02

Media de dez determinações.

Tabela 11: Resultados estatísticos obtidos na determinação do dicloridrato de Cetirizina em comprimidos em amostras simulada 1 e comerciais A, B, C e D.

Amostra	Desvio padrão	Coefficiente de variação (%)	Intervalo de confiança P=95%
Comprimidos			
1	0,11	0,73	96,72±0,08
A	0,07	0,50	98,67±0,05
B	0,07	0,47	95,34±0,05
C	0,08	0,57	95,34±0,06
D	0,06	0,39	98,02±0,04

Xaropes

As Tabelas 12 e 13 apresentam os resultados obtidos empregando o método zero-crossing, nas amostras de xarope simulada e comercial. Determinação da amplitude a 225nm.

Tabela 12: Resultados obtidos na determinação de teor de dicloridrato de cetirizina em xaropes pelo método espectrofotométrico derivado no ultravioleta nas amostras simulada 3 e comercial E.

Amostras	Valor rotulado de dicloridrato de cetirizina (mg/mL)	Valor encontrado* de dicloridrato de cetirizina (mg/mL)	Teor Percentual (%)
Xarope 3	1,00	1,01	100,73
E	1,00	0,84	84,42

Media de dez determinações.

Tabela 13: Resultados estatísticos obtidos na determinação do dicloridrato de cetirizina em xaropes nas amostras simulada 3 e comercial E.

Amostra	Desvio padrão	Coefficiente de variação (%)	Intervalo de confiança P=95%
Xaropes			
3	0,09	0,66	100,73±0,07
E	0,09	0,72	84,42 ±0,06

5.2.2.3. TESTES DE RECUPERAÇÃO

Comprimidos e Xarope

Os resultados da recuperação do dicloridrato de cetirizina pelos métodos espectrofotométrico derivado no ultravioleta (zero-pico para comprimidos e zero-crossing para xaropes) efetuados nas amostras simuladas 1 e 3 e comerciais A, B, C, D e E podem ser observados na Tabela 14 e 15.

Tabela 14: Resultados da recuperação do dicloridrato de cetirizina por Espectrofotometria derivada no ultravioleta das amostras simulada 1 e comerciais A, B, C e D. Método quantitativo zero pico com determinação a 238, 75nm.

Amostras	Quantidade ($\mu\text{g/mL}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Recuperada	
Comprimidos			
1	2,00	1,98	99,44
	6,00	5,95	99,20
	10,00	9,88	98,80
A	2,00	2,01	100,48
	6,00	6,01	100,17
	10,00	10,00	100,03
B	2,00	2,01	100,42
	6,00	6,08	101,33
	10,00	10,20	102,00
C	2,00	2,00	100,09
	6,00	6,00	100,04
	10,00	10,04	100,38
D	2,00	2,00	100,00
	6,00	5,93	98,92
	10,00	10,03	100,28

Tabela 15: Resultados da recuperação do dicloridrato de cetirizina por Espectrofotometria derivada no ultravioleta das amostras simulada 3 e comercial E. Método zero-crossing com determinação a 225nm.

Amostras	Quantidade ($\mu\text{g/mL}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Recuperada	
Xaropes			
3	2,00	2,02	100,89
	6,00	6,01	100,22
	10,00	10,02	100,18
E	2,00	1,96	98,00
	6,00	6,08	101,30
	10,00	9,90	99,03

6. DISCUSSÃO

Para a quantificação da cetirizina em formas farmacêuticas, foram encontrados 4 métodos espectrofotométricos^{20,24,63}, três aplicados em comprimidos empregando determinação direta e derivação das curvas e outro aplicado em xarope empregando extração dos excipientes com leitura direta.

Os outros métodos foram de cromatografia líquida de alta eficiência⁷⁷ e infravermelho²⁹ aplicados em comprimidos.

A Farmacopéia Européia apresenta somente métodos para identificação como substância pura e testes de determinação de impurezas na matéria prima.

Tomando como referência os métodos espectrofotométricos encontrados na literatura procedeu-se ao desenvolvimento dos métodos propostos.

6.1. IDENTIFICAÇÃO

Nota: Devido a falta de padrão de referência para o desenvolvimento dos testes de identificação, o dicloridrato de cetirizina fornecido pelos Laboratórios Prieto S.A., foi comparado com outros dois lotes de dicloridrato de cetirizina (grau farmacêutico) fornecidos pelos laboratórios Abbot e Ucifarma do Brasil.

Na determinação por espectroscopia no infravermelho a substância utilizada como referência foi comparada com as outras duas, verificando que apresentavam picos semelhantes nos mesmos comprimentos de onda. A literatura oficial ainda não apresenta o espectro característico da cetirizina mas como esta apresenta estrutura similar a da hidroxizina, realizou-se a comparação com a mesma¹⁴. Os principais picos identificados⁷² foram $719,54\text{cm}^{-1}$ e $758,09\text{cm}^{-1}$ dos grupos aromáticos presentes, $1019,98\text{ cm}^{-1}$ do éter $1760,26\text{ cm}^{-1}$ do grupo carbonila; $2371,30\text{cm}^{-1}$ e $3451,44\text{cm}^{-1}$ grupos hidroxilas.

Na reação química as três substâncias apresentaram precipitado branco dando positivo o teste de reação com nitrato de prata em meio ácido, característica da presença de cloro.

Na absorção em ultravioleta as três substâncias apresentaram, absorção máxima a 231nm em HCl 0,1N.

A Farmacopéia Européia 3^a ed. recomenda, também, a identificação dessa substância por cromatografia em camada delgada, utilizando um padrão primário de referência. Não foi utilizado este padrão, mas foi realizada uma comparação da cromatografia em camada delgada com os outros dois lotes fornecidos pelas outras indústrias. Obteve-se R_f entre 0,29 e 0,31.

O último teste de identificação realizado para estas substâncias foi a determinação do ponto de fusão que não é indicada pela Farmacopéia Européia, mas é um dado característico de cada substância. Neste teste os diferentes lotes de dicloridrato de cetirizina apresentaram ponto de fusão entre 210°C e 230°C .

A pureza da substância de referência escolhida (Laboratorios Prieto S.A.) indicada no laudo do fornecedor é de 99,5%.

6.2. METODOLOGIA ANALÍTICA

6.2.1. ESPECTROFOTOMETRIA NO UV.

6.2.1.1. PARAMETROS ESTABELECIDOS

A cetirizina é altamente solúvel em água, mas como possui em sua molécula grupos amínicos e éter, é muito susceptível a hidrólise²⁸. Foi utilizada uma solução de HCl 0,1 N para manter a cetirizina em sua forma não ionizada, evitando desta maneira alterações da molécula que possam interferir na quantificação.

6.2.1.2. CONSTRUÇÃO DA CURVA DE RINGBOM E DE CALIBRAÇÃO.

Para construção da curva de Ringbom foram utilizadas 20 soluções entre 2,0 e 40,0 μ g/mL. Mediante a curva de Ringbom verificamos se um dado sistema segue a lei de Beer e qual é a zona de transmitância para a qual o erro relativo na concentração é mínimo²⁸.

A partir da curva de Ringbom foi traçada a curva de calibração escolhendo os pontos com maior linearidade³⁸. Para quantificação, utilizou-se o ponto médio da reta de calibração correspondente a 15,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina. Esta concentração analítica apresenta uma absorção de aproximadamente 0,560, observando-se que a interferência dos excipientes neste ponto não é significativa (Figura 10) na determinação.

6.2.1.3. PESQUISA DE INTERFERENTES NOS EXCIPIENTES

Comprimidos:

Esta pesquisa foi realizada para comprovar a especificidade do método^{12,30,37,38}. Para eliminar a interferência dos excipientes na determinação foram filtradas as soluções de 10,0; 15,0 e 20,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina das amostras de comprimidos através de papel filtro. A Figura 10 mostra sobreposição das curvas de absorção das soluções padrão amostra e placebo nas diferentes concentrações, visualizando-se a interferência dos excipientes a partir da concentração de 20,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina.

Xarope:

No xarope observa-se (Figura 11) que os adjuvantes da preparação têm uma absorvância maior que o dicloridrato de cetirizina de maneira que o pico da cetirizina é aumentado de 0,560 (absorvância correspondente a 15,0 μ g/ mL de dicloridrato de cetirizina padrão) para 1,12, não sendo possível realizar a determinação da cetirizina na presença desses constituintes.

Nos xaropes os principais adjuvantes interferentes nas determinações quantitativas são os parabenos que apresentam absorvância a 255nm^{14,24}. Foram traçados espectros a partir de soluções, contendo ou não os parabenos.

A solução placebo (amostra 5) isenta de parabenos, apresentou absorvância de 0,02 a 231nm (Figura 12), de maneira que descartou-se a possibilidade de que a interferência poderia ser causada por adjuvantes como açúcar, sorbitol, sacarina ou a essência. Já com o placebo contendo na sua formulação os parabenos a absorvância foi de 1,383 (Figura 13).

Tentou-se eliminar esta interferência, extraído da preparação os parabenos com 100mL de clorofórmio. A Figura 15 mostra o espectro de absorção da solução do xarope após extração, apresentando absorbância de 0,580, bem próxima à do padrão.

Não houve sobreposição do espectro padrão e da amostra, das soluções extraídas com clorofórmio (Figura 16). Para conferir esta interferência foi realizado o teste de exatidão, encontrando-se valores de recuperação não aceitáveis, por isso não foi aplicada esta metodologia na determinação das amostras de xarope.

6.2.1.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NA AMOSTRA SIMULADA 1 E COMERCIAIS A, B, C E D.

Pelos resultados obtidos (Tabelas 5 e 6) na determinação da cetirizina em comprimidos pode-se observar que existe concordância entre os valores experimentais, apresentando bom coeficiente de variação^{12,13,30,38}, e portanto, boa precisão dos valores experimentais obtidos quando aplicada esta metodologia em comprimidos.

6.2.1.5. TESTE DE RECUPERAÇÃO.

Este teste relaciona-se com a exatidão^{12,13,30,37,38}, que traduz a concordância dos valores experimentais com o valor verdadeiro.

A Tabela 7 apresenta os resultados deste teste, obtendo-se valores entre

98,53 e 101,67%. Com base nestes resultados, pode-se afirmar que o método pode ser aplicado para o doseamento do dicloridrato de cetirizina em comprimidos.

6.2.2. ESPECTROFOTOMETRIA DERIVADA

6.2.2.1. PARÂMETROS ESTABELECIDOS

Foi escolhida a derivada de 1ª ordem para determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras porque diminui interferência dos excipientes na determinação; ordens de derivada maiores de 2 aumentam o sinal ruído impedindo boa resolução do espectro.

Valores menores de delta lambda de 2nm apresentam quantidade significativa de ruído, e valores maiores diminuem a amplitude da curva derivada. Procurou-se trabalhar com um valor que permitisse medir a amplitude da curva e com boa resolução.

Escolheu-se a velocidade de varredura de 300nm/min que ofereceu boa resolução do espectro.

O assentamentos das ordenadas de $\pm 0,1$ oferece amplitudes razoáveis para determinação de suas dimensões.

Os método zero-pico para comprimidos e zero-crossing para xarope foram escolhidos por não apresentar erros devidos à interferência dos excipientes na preparação.

6.2.2.2. CONSTRUÇÃO DAS CURVAS DE CALIBRAÇÃO

As Figuras 17 e 18 apresentam os espectros obtidos e as respectivas derivadas de 1ª ordem nas concentrações de 5,0 a 25,0µg/mL, utilizadas na construção das curvas de calibração.

As curvas de calibração, Figura 19, apresentaram boa linearidade na concentração analítica de 15,0µg/mL. Para construção de cada uma delas foram realizadas determinações a 225nm e a 238,75nm e para ambas, as medidas das amplitudes apresentaram aumento proporcional ao aumento da concentração, apresentando valores de coeficientes de correlação de 0,9999 (Tabela 9).

6.2.2.3. PESQUISA DE INTERFERENTES NOS EXCIPIENTES.

Comprimidos:

Este teste foi realizado nos comprimidos em 3 diferentes concentrações 10,0, 15,0 e 20,0µg/mL. Observa-se que na medida em que aumentam as concentrações, a interferência dos excipientes na determinação torna-se perceptível. As Figuras 20, 21 e 22 apresentam os resultados deste teste.

Na concentração de 15,0µg/ mL não apresentou interferência como pode ser observada na sobreposição dos espectros. Os testes de exatidão e os valores de recuperação (Tabela 14) indicaram que os excipientes nestas concentrações não causam interferência no momento da determinação.

Xarope:

Foram aproveitadas algumas características como: o espectro derivado de primeira ordem do dicloridrato de cetirizina apresenta um vale a 225nm (Figura 23A) e a derivada de primeira ordem da solução placebo apresenta uma anulação neste ponto. Depois de observar o comportamento de soluções de placebos em diferentes concentrações dando o mesmo resultado, procedeu-se à aplicação dos testes de exatidão e precisão na amostra simulada (Tabelas 12, 13 e 15), observando-se um coeficiente de variação de 0,66 e recuperações entre 100,22 e 100,89%, valores muito bons para este teste^{12,13,30,38}.

6.2.2.4. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE DICLORIDRATO DE CETIRIZINA NAS AMOSTRAS SIMULADAS 1 E 3 E COMERCIAIS A, B, C, D, E

Comprimidos:

A aplicação do método na amostra simuladas 1 e comerciais A, B, C e D apresentou resultados satisfatórios. O coeficiente de variação, que indica a precisão do método, ficou dentro das normas estabelecidas oficialmente^{12,13,38}. Os resultados apresentam-se nas tabelas 10 e 11.

Xarope:

No xarope obtiveram-se bons resultados com a amostra simulada apresentados nas Tabelas 12 e 13. Mas quando este método foi aplicado a amostra comercial obteve-se valores muito baixos (84,42%), como foi apresentado na tabela 12. De maneira que para aplicação de este método é preciso o conhecimento da composição exata do veículo e da definição

empírica do ponto de anulação.

Sabendo-se a composição exata de uma formulação, este método é altamente aplicável na indústria, para as determinações rotineiras, pois além de ser rápido, evita o uso de solventes nocivos à saúde.

6.2.2.5. TESTE DE RECUPERAÇÃO

Comprimidos e Xarope:

O teste de recuperação está relacionado com a exatidão dos valores obtidos e foi realizado segundo as normas da Association of Official Analytical Chemists³.

Este teste tanto para o método direto quanto para o derivado quando aplicado em comprimidos apresentou valores dentro dos limites oficiais^{3,13,30,38}, para a amostra simulada e comercial de xarope determinada pelo método zero-crossing os resultados de recuperação foram muito bons. De maneira que conhecendo-se o ponto de anulação da substância interferente, a substância em estudo pode ser determinada, com exatidão.

7. CONCLUSÕES

Pelo levantamento efetuado na literatura e pelos dados experimentais obtidos, pode-se concluir:

1. Por se tratar de um fármaco relativamente novo são poucos os trabalhos químico analíticos sobre ele. Mas por ser metabólito da hidroxizina, fármaco amplamente estudado, este pode servir de base para o desenvolvimento de metodologias para análise do dicloridrato de cetirizina.
2. A espectrofotometria ultravioleta demonstrou ser um método preciso e exato para determinação do dicloridrato de cetirizina em comprimidos dependendo das concentrações e dos excipientes presentes na preparação.
3. A espectrofotometria derivada demonstrou ser potencialmente aplicável na determinação da cetirizina em comprimidos. Mostrou a eliminação da interferência dos excipientes na medida em que eles aumentavam na preparação.
4. Pelos resultados obtidos com as amostras comerciais de comprimidos observa-se que a espectrofotometria derivada de primeira ordem é

um método aplicável para determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras comerciais de comprimidos.

5. Em xarope (formulação simulada) a espectrofotometria derivada de primeira ordem provou ser útil na determinação da cetirizina em presença dos excipientes que causam interferência na determinação pelo método direto, eliminando a fase de extração e separação prévia dos fármacos.
6. A determinação da cetirizina em xarope comercial pelo método derivado apresentou teores baixos, que podem ser devidos a interferência dos excipientes. Este método deve ser aplicado quando são conhecidos exatamente os constituintes da formulação e o ponto de anulação do interferente. O sucesso do seu emprego está em processos rotineiros nas indústrias, nas quais a formulação é totalmente conhecida.
7. Os coeficientes de correlação para os métodos propostos (0,9999) mostraram a boa linearidade.
8. Os testes de recuperação confirmaram a exatidão dos métodos desenvolvidos.
9. Os coeficientes de variação obtidos no intervalo de 0,22 a 0,73 para comprimidos e de 0,66 para o xarope simulado, confirmaram a precisão dos métodos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABDEL-KHALEK, M.M. ABDEL-HAMID, M.E., MAHROUS, M.S., ABDEL-SALAM, M.A. Second derivative spectrophotometric determination of some benzenoid drugs. **Anal. Lett.**, New York, v.18, n.87, p.781-792, 1985.
2. ALBANESI, C., PASTORE, S., BELASIO, F.E., GIROLOMON, G. Cetirizine and hydrocortisone differentially regulate ICAM-1 expression and chemokine release in cultured human keratinocytes. **Clin. Exp. Allergy**, Oxford, v.28, n.1, p.101-109, 1998.
3. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15.ed. Arlington: AOAC, 1990. v.1, p.xvii.
4. BABE, K. S., SEFARIN, W. E. Histamine , bradykinin, and their antagonists. In: Hardman, J.G., Limbird, L.E., Molinoff, P.B., Ruddon, R.W., Gilman, A.G., eds. **Goodman & Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics**. 9.ed. New York: McGraw-Hill, 1996. p.581-593.

De acordo com a norma NBR 6023/90 preconizada pela ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). As abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o CHEMICAL ABSTRACTS SERVICE SOURCE INDEX (CASSI) 1999. [CD-Rom].

5. BALLMER, W.B.K., WUETHRICH, B. Inhibition or allergen induced wheals by a single dose of cetirizine or fexofenadine. **Allergy**, Copenhagen, v.53, n.43, p.78, 1998.
6. BALTES, E., COUPEZ, R., BROUWERS L., GOBERT, J. Gas chromatographic method for the determination of cetirizine in plasma. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.430, n.1, p.149-155, 1988.
7. BALTES, E., DE LENNOY, J., RODRIGUEZ, L. [4-(Diohenylmethyl)- 1 - piperaziny] acetic acids and their amides and pharmaceutical compositions. EP Pat. 58146, 1982. 30p. Apud: **Chem. Abstr.**, Columbus, v. 98, abstr. 34599, 1983.
8. BENETON, S.A. Análise do salbutamol em medicamentos por espectrofotometria derivada. São Paulo, 1990. 86p. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - USP).
9. BOSCH, C.O., SANCHEZ, F.R., CANO, J.M.P. Recent developments in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry. **Talanta**, Amsterdam, v.42, p.1195-1214, 1995.
10. BRENEMAN, D.L. Cetirizine versus hydroxyzine and placebo in chronic idiopathic urticaria. **Ann. Pharmacother.**, Cincinnati, v.30, p.1075-1079, 1996.
11. BRIK, A., TASHKIN, D.P., GONG, H., DAUPHINEE, B., LEE, E. Effect of cetirizine, a new histamine H₁ antagonist, on airway dynamics and responsiveness to inhaled histamine in mild asthma. **J. Allergy Clin Immunol.**, St. Louis, v.80, n.1, p.51-6, 1987.

12. BRITTAİN, H.G. Validação de métodos analíticos não ,cromatográficos. **Pharm. Thecnol. Ed. Port.**, Marina del Rey, jun., p.4-28, 1998.
 13. BRUCE, P., MINKKINEN, P., RIEKKOLA, M.-L. Practical method validation: validation sufficient for an analysis method. **Mikrochim. Acta**, Wien, v.128, p.93-106, 1998.
 14. CLARKE, E.C.G. **Isolation and identification of drugs**. London: Pharmaceutical Press, 1989, p.673, 762, 938.
 15. CONDINO, N.A., MUSCARA, M.N., BOZZA, P.T., CASTRO, F.N., DENUCCI, G. Effect of a 1 week administration of cetirizine on the chemotaxis and superoxide anion production of neutrophils from healthy volunteers. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.**, Deisenhofen, v.34, n.3, p.96-100, 1996.
 16. CONSIGLIERI, V., FERRAZ, H.G., STORPIRTIS, S., VELASCO-DE PAOLA, M.V.R., BATTAGLIA, S.C. Determinação de ibuprofeno em comprimidos por espectrofotometria derivada no ultravioleta. **Rev. Port. Farm.**, Lisboa, v.46, n.4, p.156-160, 1996.
 17. DAY, R.A., UNDERWOOD, A.L. **Química analítica quantitativa: espectrofotometria**. 5.ed. Mexico: Prentice Hall Hispanoamericana, 1989. p.466-468.
 18. DEF 99/2000: dicionário de especialidades farmacêuticas. 28.ed. Rio de Janeiro: EPUC, 1999. p. 277, 1068, 1071, 1086 .
 19. DERENDORF, H., HOCHHAUS, G. **Handbook of pharmacokinetic/pharmacodynamic correlation**. Boca Raton: CRC Press, 1995. p.282-283.
-

20. EL WALILY, A.F.M., KORANY, M.A., EL GINDY, A., BEDAIR, M.F. Spectrophotometric and high performance liquid chromatographic determination of cetirizine dihydrochloride in pharmaceuticals tablets. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.17, p.435-442, 1998.
21. EUROPEAN Pharmacopoeia. 3.ed. Strasbourg: Council of Europe, 1997. p.579-580.
22. FIREMAN, P., SKONER, M.D., TANNER, E., DOYLE, W. A primate model for the evaluation of antihistamines. **Ann. Allergy**, St. Paul, v.59, n.6, p.11-13, 1987.
23. FROSSARD, N., BENABDESELAM, O., MELAC, M., PAULI, G. Comparative efficacy of cetirizine in the skin and nose in patients with allergic rhinitis. **Ann. Allergy, Asthma, Immunol.**, McLean, v.80, n.1, p.61-65, 1998.
24. GARG, A., BADWE, N., KAUL, P., SETHI, P.D. Estimation of cetirizine dihydrochloride in syrups. **Indian Drugs**, Mumbai, v.32, n.8, p.409-410, 1995.
25. GENGO, F.M., DABRONZO, J., YURCHAK, A., LOVE, S., MILLER, K. The relative antihistaminic and psychomotor effects of hydroxyzine and cetirizine. **Clin. Pharmacol. Ther.**, Deisenhofen, v.42, n.1, p.265-272, 1987.
26. GENGO, F.M., GABOS, C. Antihistamines, drowsiness and psychomotor impairment: central nervous system effect of cetirizine. **Ann. Allergy**, St. Paul, v.59, n.6, p.53-57, 1987.

27. GISPERT, J., ANTONIJOAN, R., BARBANOJ, M., GICH, I., MORTE, A., GARCIA, E., ESBRI, R., LURIA, X. Pharmacodynamic assessment of the efficacy and multiple doses of ebastine, cetirizine and loratadine against histamine-induced cutaneous challenge in healthy volunteers. **J Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v.101, n.1, p.920, 1998.
28. GONÇALVES, M.L.S.S. **Métodos instrumentais para análise de soluções-análise quantitativa**: espectrofotometria no visível e ultravioleta; erros em química analítica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1983. p.13-82, 609-640.
29. GONÇALVES, M.I.A., HARAGUCHI, T. Doseamento da cetirizina por espectrofotometria no infravermelho. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF LATIN AMERICAN AND CARIBBEAN SECTION AOAC INTERNATIONAL, 1, São Paulo, 1995. **Abstracts**. São Paulo: AOAC, 1995.
30. GREEM, J.M. A practical guide to analytical method validation. **Anal. Chem.**, Columbus, v.68, n.9, p.305A-309A, 1996.
31. GROB, J.J., CASTELAIN, M., RICAHRD, M.A., BONIOL, J.P., BERAUD, V., ADHOUTE, H., GUILLOU, N., BONERANDI, J.J. Antiinflammatory properties of cetirizine in a human contact dermatitis model. **Acta Derm. Venereol.**, Uppsala, v.78, n.3, p.194-197, 1998.
32. HACKMANN, E.R.M., BENETON, S.A., SANTORO, M.I.R.M. Espectrofotometria derivada na análise de fármacos em medicamentos. **Rev. Port. Farm.**, Lisboa, v.41, n.1, p.7-13, 1991.

33. HANAEE, J. Simultaneous determination of acetaminophen and codeine in pharmaceutical preparations by derivative spectrophotometry. **Pham. Acta Helv.** , vol. 72, p. 239 – 41, 1997.
34. HAYE, R., AANESEN, J.P., BURTIN, B., DONNELLY, F., DUBY , C. The effect of cetirizine on symptoms and signs of nasal polyposis. **J. Laryngol. Otol.**, Ashford, v.112, n.11, p.1042-1046,1998.
35. HENZ, B.M., METZENAUER, P., O'KEEFE, E., ZUBERBIER, T. Differential effects of new-generation H₁-receptor antagonists in pruritic dermatoses. **Allergy**, Copenhagen, v.53, n.2, p.180-182, 1998.
36. HORAK, F., TOTH, J., MARKS, B., STUBNER, U.P., BERGER, U.E., JAGER, S., BURTIN, B., DUBY, C. Efficacy and safety relative to placebo of an oral formulation of cetirizine and sustained-release pseudoephedrine in the management of nasal congestion. **Allergy**, Copenhagen, v.53, n.9, p.849-856, 1998.
37. ICH Q2a. Text on validation of analytical procedure. [on line]. Available: <http://www.ich.org> [november 6, 1996].
38. ICH Q2b. Text on validation of analytical procedure: methodology. [on line]. Available: <http://www.ich.org> [october 27, 1194].
39. JEAN LOUIS, F., RHIOUX, J.P., MELAC, M., MERGNY, M., GRASS, M.P., DUBERTRET, L., MICHEL, L. Cetirizine inhibits TNF alpha-induced VCAM-1 expression and NF-Kappa B activation in human endothelial cells in vitro. **J. Invest. Dermatol.**, Malden, v.110, n.4, p.681-682, 1998.

40. JOLLES, S., HILL, H. Management of aseptic meningitis secondary to intravenous immunoglobulin. **Br. Med. J.**, London, v.316, p.936, 1998.
41. JUHLIN, L., VOS, C., RIHOUX, J. Inhibiting effect of cetirizine on histamine- induced and 48/80-induced wheals and flares, experimental dermographism, and cold-induced urticaria. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v.80, n. 4, p.599-602, 1987.
42. KANTAR, A. Cetirizine attenuates the priming capacity on neutrophils of lacrimal fluid obtained after allergen induced conjunctivitis. **Allergy**, Copenhagen, v.53, n.43, p.76, 1998.
43. KATZUNG, B.G. **Farmacología básica y clínica**. 5.ed. Santafé de Bogota: El Manual Moderno, 1994. p.285-295.
44. KITAMURA K., MAJIMA R. Determination of salicylic acid in aspirin powder by second derivative ultraviolet spectrometry. **Anal. Chem.**, Columbus, v.55, n.1, p.54-56, 1983.
45. KOROLKOVAS, A., BURCKHALTER, J.H. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1982. p.346-361.
46. LANZ, M.J., LIU, A.H., BUCHMEIER, A.D., NELSON, H.S. Nasal nitric oxide decreases in children with grass pollen allergy with oral cetirizine syrup. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v.101, n.1, p.1013, 1998.
47. LEVILLAIN, P., FOMPEYDIE, D. Spectrophotométrie dérivée: intérêt, limites et applications. **Analisis**, Paris, v.14, n.1, p.1-20, 1989.

48. MADDOX, D.E., REED, C.E. Clinical pharmacodynamics of antihistamines. **Ann. Allergy**, St. Paul, v.59, n.6, p.43-48, 1987.
49. MARTINDALE, W. **The extra pharmacopeia**. 30.ed. London: Pharmaceutical Press, 1993. p.928, 933.
50. MATZKE, G.R., YEH, J., AWNI, W.M., HALSTENSON, C.E., CHUNG, M. Pharmacokinetics of cetirizine in the elderly patients with renal insufficiency. **Ann. Allergy**, St. Paul, v.59, n.6, pt.2, p.25-30, 1987.
51. McWILLIAM, I.C. Derivative spectroscopy and its application to the analysis of unresolved bands. **Anal. Chem.**, Columbus, v.41, n.4, p.674-676, 1969.
52. MEALY, N.E., LEESON, P.A. Cetirizine hydrochloride. **Drugs Future**, Barcelona, v.12, n.7, p.624-627, 1987.
53. MERCK Index. 12.ed. Whitehouse Station, 1996. p. 2067,4900.
54. MICARINI, M., CAGNONI, F., SEMINO, C., PASSALACQUA, G.G., MELIOLI, G., CANONICA, G.W. Effect of cetirizine on cytokine-stimulated cells from nasal mucosa. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v.101, n.1, p.327, 1998.
55. MONCRIEF, J. Determination of cetirizine in serum using reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet spectrophotometric detection. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.583, p.128-130, 1992.

56. MORELLI B. Determination of a quaternary mixture of vitamins B6, B1 and B12 and uridine 5'triphosphate, by derivative spectrophotometry. **J. Pharm. Sci.**, Columbus, v.84, n.1, p.35-37, 1995.
 57. MUKHERJI, G., AGGARWAL N. Derivative uv-spectroscopic determination of salbutamol sulphate in the presence of gelatin. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.71, p.187-191, 1991.
 58. MUSCARA, M.N., DE-NUCCI, G. Comparative bioavailability doses of tablet formulations of cetirizine dihydrochloride in healthy male volunteers. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.**, Deisenhofen, v.33, n.1, p.27-31, 1995.
 59. NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 4.ed. New York: John Wiley, 1986. p.231-233.
 60. NICHOLSON, A.N., TURNER, C. Central effects of the H1-antihistamine, cetirizine. **Aviat, Space Environ. Med.**, Alexandria, v.69, n.2, p.166-171, 1998.
 61. ONUR, F., GUNGOR, S. Simultaneous determination of rifamycin sv sodium and lidocaine hydrochloride in injection preparations by first derivative uv spectrophotometry. **Sci. Pharm.**, Vienna, v.65, p.155-164, 1997.
 62. PARIENTE-KHAYAT, A., REY, E., DUBOIS, M.C., VAUZELLE KERVROEDAN, F., PONS, G. Pharmacokinetics of cetirizine in 2 and 6 year old children. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.**, Deisenhofen, v.33, n.6, p.340-344, 1995.
-

63. PARTHASARADHI REDDY, B., SURYANARAYANA, M.V., VENKATRAMAN, S., SATYANARAYANA REDDY, M., Krupadanam D. G. L., SASTRY, C.S. UV spectrophotometric determination of cetirizine dihydrochloride in dosage forms. **Indian Drugs**, Mumbai, v.30, n.6, p.286-287, 1993.
 64. PASSALACQUA, G., ALBANO, M., FREGONESE, L., RICCIO, A., CANONICA, G.W. Randomized controlled trial of local allergoid immunotherapy on allergic inflammation in mite induced rhinoconjunctivitis. **Lancet**, London, v.351, p.629-632, 1998.
 65. PAUL, E.W. **Fundamental immunology**. 3.ed. New York: Raven Press, 1993. p.1399-1403.
 66. PENILDON, S. **Farmacologia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p.550-554.
 67. RICHARDS, D.M.C., BUCKLEY, M.M.T., FITTON, A. Cetirizine a review of its pharmacological properties and clinical potential in allergic rhinitis, pollen-induced asthma, and chronic urticaria. **Drugs**, Auckland, v.40, n.5, p.761-781, 1990.
 68. ROSSEEL M.T., LEFFEBVRE, R.A. Determination of cetirizine in human urine by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.565, p.504-509, 1991.
 69. SALE, M.E., BARBEY, J.T., WOOSLEY, R.L., EDWARDS, D., CHUNG M. Electrocardiographic effects of cetirizine in normal subjects. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v.56, n.3, p.295-301, 1994.
-

70. SANCHEZ R.F., BOSCH O., CANO P.J.M. Derivative ultraviolet visible region absorption spectrophotometry and its analytical applications. **Talanta**, Amsterdam, v.35, n.10, p.753-761, 1988.
71. SHAREEHAH, A.M., YOUSSEF, M., DECKERS, I., DE MAHIEU, C. Double-blind, parallel, randomized pilot study comparing the efficacy and tolerance of cetirizine 10 mg, mequitazine 2 x 5 mg and placebo in the treatment of patients suffering from chronic urticaria: Comparison of suppressive effects on histamine-induced wheals and flares. **Drug Dev. Res.**, New York, v.43, n.4, p.185-192, 1998.
72. SILVERSTEIN, R.M., BASSUR, G.C., MOKKIL, T.C. **Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p.85-120.
73. SNEADER, W. **Drug discovery: the evolution of modern medicines**. New York: John Wiley, 1985. p.165-174.
74. SPENCER, M., FAULDS, D., PETERS, D.H. Cetirizine reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use in selected allergic disorders. **Drugs**, Auckland, v.46, n.6, p.1055-1080, 1993.
75. SPICAK, V., DAB, I., HULHOVEN, R., DESAGER, J.P., HARVENGT, C. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cetirizine in infants and toddlers. **Clin. Pharmacol. Ther.**, St. Louis, v.61, n.3, p.325-330, 1997.
76. SURMEIAM, M. Simultaneous determination of ascorbic acid, pyridoxine hydrochloride, and tyrosine by derivative uv spectrophotometry. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, New York, v.24, n.7, p.691-696, 1998.

77. SURYANARAYANA, M.V., REDDY, B.P., KRUPADANAM, G.L., VENKATRAMAN, S., SASTRY, C.S. HPLC determination of cetirizine dihydrochloride. **Indian Drugs**, Mambai, v.29, n.13, p.605-607, 1992.
 78. USP DI. 15.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1995. p.31-34, 310-311. [Drug Information for the Health Care Professional, v.1].
 79. WASSERMAN, S.I., BROIDE, D.H., MARQUARDT, D.L. Cetirizine therapy for seasonal allergic rhinitis: alternative dosage schedules. **Clin. Ther.**, Belle Mead, v.13, n.6, p.707-713, 1991.
 80. WOOD, S.G., JOHN, B.A., CHASSEAUD, L.F., YEH, J., CHUNG, M. The metabolism and pharmacokinetics of ¹⁴C-cetirizine in humans. **J. Anal Allergy**, v.59, n.6, p.33-34, 1987.
 81. ZANINI, A.C., OGA, S. **Farmacologia aplicada**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1989. p.491-497.
 82. ZANINI, A.C., OGA, S. **Guia de medicamentos**. São Paulo: Atheneu, 1995. p.160.
-