

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO SEGURO E AMBIENTALMENTE ADEQUADO PARA QUANTIFICAÇÃO DE ATENOLOL EM MATÉRIA PRIMA E COMPRIMIDOS

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF A SAFE AND ENVIRONMENTALLY APPROPRIATE SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR QUANTIFICATION OF ATENOLOL IN RAW MATERIAL AND TABLETS

Isabela Angeli de LIMA¹; Ralpo Rinaldo dos REIS²; Eduardo Borges de MELO²

1. Discente, Laboratório de Ensino em Controle de Qualidade Físico-Químico de Fármacos e Medicamentos - Cofiqui, Centro de Ciências Médicas e Farmacêuticas - CCMF, Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Unioeste, Cascavel, PR, Brasil; 2. Professor, Doutor, Cofiqui - CCMF - Unioeste, Cascavel, PR, Brasil eduardo.melo@unioeste.br

RESUMO: Um dos ensaios descritos na Farmacopéia Brasileira para determinação do fármaco anti-hipertensivo atenolol como matéria prima e em comprimidos utiliza espectrofotometria ultravioleta (UV). Porém, o solvente utilizado é o metanol, um agente químico inflamável e tóxico, cujos resíduos químicos são de difícil tratamento. Portanto, é interessante o desenvolvimento de métodos analíticos que sejam mais seguros e ambientalmente adequados. Considerando que o atenolol é solúvel em soluções ácidas diluídas, foi avaliado o uso de ácido clorídrico 0,01 mol.L⁻¹ como um método alternativo. Para isto, foi realizada a validação do novo método avaliando sua linearidade, especificidade, seletividade, intervalo, limite de quantificação e detecção, precisão, exatidão e robustez. Todas as figuras de mérito mostraram-se dentro dos limites recomendados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). A comparação com o método original mostrou equivalência estatística entre os métodos. Assim, o método mostrou-se adequado como um procedimento mais seguro e ambientalmente adequado para as etapas de controle de qualidade relacionadas a produção de medicamentos a base de atenolol pelas indústrias farmacêuticas.

PALAVRAS CHAVES: Atenolol. Espectrofotometria. Validação de métodos. Química verde. Metanol. Medicamentos.

INTRODUÇÃO

O atenolol, 4-[-2-Hidroxi-3-[(1-metiletil)amino]propoxi]benzenoacetamida (Figura 1), é um antagonista β_1 seletivo sem atividade simpaticomimética intrínseca (LUNDGREN et al., 1979; SMITH e TEITLER, 1999). Seu uso é indicado no tratamento da hipertensão essencial, angina pectoris, arritmias cardíacas e também como coadjuvante no tratamento da estenose subaórtica hipertrófica (FARMACOPÉIA, 2010; P.R. VADE MÉCUM, 2003).

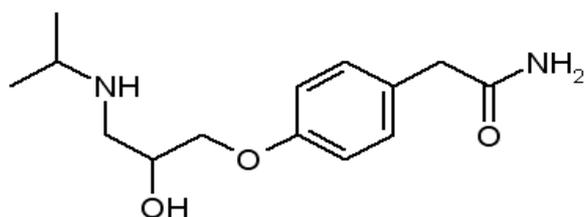


Figura 1. Fórmula estrutural do atenolol. Massa molar 266,34g.mol⁻¹.

A Farmacopéia Brasileira, 5^a Edição (F. Bras. V), descreve, como métodos de doseamento do atenolol, a espectrofotometria de absorção no ultravioleta (UV) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), tanto para matéria prima quanto

para comprimidos (FARMACOPÉIA, 2010). Porém outros métodos como titulação potenciométrica (NIKOLELIS, PETROPOULOU; MITROKOTSA, 2002; HASSAN et al., 2003; SHAMSIPUR, JALALI; HAGHGOO, 2005), cromatografia de camada delgada (ARGEKAR; POWAR, 2000), eletroforese capilar (BRIGUENTI; BONATO, 2005; SHAFATI & CLARK, 1996), espectrofotometria derivativa (BONAZZI et al., 1996) e voltametria (GOYAL et al., 2006) também estão disponíveis na literatura.

A metodologia espectrofotométrica descrita pela F. Bras. V utiliza como solvente o metanol, já que o atenolol dissolve-se facilmente no mesmo (FARMACOPÉIA, 2010). Entretanto, o metanol é um composto inflamável e tóxico para seres vivos e para o meio ambiente. Segundo a Legislação Brasileira, o limite a que um trabalhador pode se expor continuamente sem apresentar efeitos adversos é de 156 ppm ou 200 mg.m⁻³ (BRASIL, 1978). No meio ambiente, esta substância é nociva principalmente aos ecossistemas aquáticos. Estudos com *Cyprinus carpio* (carpa), salmonídeos e outros peixes, como o *Danio rerio* (zebrafish ou paulistinha) (RICO, 2007; LANGONI et al., 2009), mostram que a presença do metanol em recursos

hídricos altera o metabolismo destes animais, principalmente o hormonal. Além disto, este solvente pode volatilizar-se a partir do solo ou ainda infiltrar e atingir as águas subterrâneas. Seu tempo de meia vida em água é de 1 a 10 dias (TOXNET, 2010).

Em modelos animais, o metanol apresenta uma DL_{50} (dose letal para 50% de uma população) oral em ratos de $5628\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; DL_{50} dérmica em coelhos de $15.800\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; e CL_{50} (concentração de uma substância química num meio, letal para 50% da população exposta, durante um determinado período de tempo) inalatória em ratos de $85\text{mg}/\text{Kg}/(1/4)\text{h}$ (IPCS, 2010a). No caso dos seres humanos, as intoxicações podem ocorrer pelas vias respiratória, dérmica ou oral, e os sintomas podem incluir cegueira, acidose metabólica e depressão do sistema nervoso central, além do risco de morte (LARINI, 1997). Um bom exemplo destes riscos de toxicidade foi descrito recentemente por Oscanoa, Sierra e Miyahira (2010): de oito pacientes atendidos com intoxicação por metanol no Peru, sete apresentaram alteração no nível de consciência e visão borrada, quatro tiveram vômitos, e todos apresentaram acidose metabólica, sendo que dois dos pacientes foram a óbito.

O processo adequado de tratamentos de resíduos que contenha metanol é um fator complicador: este solvente não deve ser descartado na rede de esgotos e não é indicado para a injeção subterrânea. O procedimento adequado envolve incineração em fornos próprios, ou o tratamento biológico quando forem resíduos aquosos de baixa concentração (IPCS, 2010b).

Os inconvenientes relacionados ao metanol ou a qualquer outro solvente que apresente um maior grau de toxicidade justificam o desenvolvimento e a validação de métodos analíticos alternativos, originais ou modificados, que utilizem reagentes de baixa toxicidade e de fácil tratamento e descarte. Tal abordagem é um dos objetos da química verde que tem como preocupação a redução ou eliminação dos impactos ambientais causados pelos processos, metodologias e procedimentos químicos convencionais (KEITH, GRON; YOUNG, 2007).

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método espectrofotométrico UV alternativo ao método oficial descrito na F. Bras. V (2010) para a quantificação de atenolol em matéria prima e comprimidos. O estudo baseou-se na possibilidade de substituição do metanol por um solvente ou solução menos tóxica, reduzindo os potenciais danos ambientais e à saúde dos trabalhadores envolvidos na manipulação, descarte e

de tratamento químico destes resíduos, assim como deixar o procedimento de descarte menos oneroso. Por fim, o novo método foi colocado a prova perante amostras de matérias primas magistrais e comprimidos industrializados disponíveis no mercado brasileiro.

MATERIAL E MÉTODOS

Materiais

Para o desenvolvimento deste estudo, foram utilizados espectrofotômetro UV-VIS Bioespectro SP-220, vidrarias graduadas e volumétricas tipo A, balança analítica Bioprecisa FA-2104N certificada pela Rede Brasileira de Calibração (RBC), ultrapurificador Gehaka modelo MS P&D, lavadora ultra-sônica SoniClean 2PS e estufa Icamo modelo 3.

Os reagentes utilizados foram ácido clorídrico (HCl), ácido acético (H_3CCOOH), metanol (H_3COH), hidróxido de sódio (NaOH) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) 30%, todos grau de pureza analítico. Atenolol com 99,6% de pureza declarada (F. Bras., lote 1028) foi utilizado como substância química de referência (SQR). Também foram usadas amostras comerciais adquiridas em farmácias magistrais e de dispensação localizadas em Cascavel e Toledo – PR.

Escolha de solventes adequados e preparo das soluções padrões.

O atenolol é bastante solúvel em água e soluções polares por possuir um pK_a de 9,6, assim como em meios ácidos pela formação de sais. O grupo polar amina é protonado em pH inferiores a 8,5, e forma base em pH superiores a 10,5 (CASTRO, 2006). Desta maneira, foi levantada a hipótese de que soluções de ácidos poderiam ser adequadas na substituição do metanol. Foi efetuado um estudo de varredura na região do ultravioleta entre 250 a 300nm, utilizando soluções de atenolol SQR ($0,2\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) em H_3CCOOH glacial e em soluções de H_3CCOOH $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, H_3CCOOH $0,01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ e HCl $0,01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, visando selecionar o meio solvente mais adequado aos objetivos do trabalho.

As soluções padrão utilizadas nas etapas de validação do método e nas análises das amostras foram preparadas a partir de uma solução estoque de atenolol SQR $0,5\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, usando-se solução de HCl $0,1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ como solvente, deixada sob ultrassom por 5 minutos. Diluições foram feitas até a obtenção da concentração padrão de $0,1\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Validação

A validação do método analítico foi feita de acordo com RE 899/2003 (ANVISA, 2003), publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), utilizando-se a planilha de Ribeiro e colaboradores (RIBEIRO et al., 2008) para avaliação dos resultados referentes à linearidade, limite de detecção e quantificação, precisão, exatidão e robustez. Também foram realizados os testes estatísticos *F* e *t*-student pareado a 5% de significância (RIBEIRO et al., 2008; BARROS, 2002).

Linearidade

A linearidade foi determinada por meio de medidas de absorbância (Abs) feitas em triplicata para seis diferentes concentrações de soluções de atenolol SQR ($n=18$): 80% (0,08 mg.mL⁻¹), 90% (0,09 mg.mL⁻¹), 100% (0,1 mg.mL⁻¹, concentração de referência), 110% (0,11 mg.mL⁻¹), 120% (0,12 mg.mL⁻¹) e 130% (0,13 mg.mL⁻¹). A linearidade entre as concentrações e as medidas de Abs foi avaliada pelo coeficiente de correlação (*R*), e pode ser considerada satisfatória se $R \geq 0,99$ (ANVISA, 2003). Se esta exigência for atendida, o intervalo de 80 a 130% de atenolol é a faixa na qual o procedimento analítico apresenta-se válido.

Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram determinados a partir do estudo de linearidade, sendo que $LQ=3(\sigma/S)$, e $LD=10(\sigma/S)$, onde σ é o desvio padrão do intercepto com o eixo Y e *S* é a inclinação da curva padrão (ANVISA, 2003; FREGONEZI-NERY et al., 2008; PEREIRA et al., 2007).

Especificidade

Realizaram-se medidas de absorbância na faixa de 260-300nm em soluções preparadas isoladamente com excipientes farmacotécnicos comumente utilizados para a produção de comprimidos não revestidos (estearato de magnésio, aerosil, celulose microcristalina, talco farmacêutico e amido de milho) (FERREIRA, 2002), com misturas de atenolol SQR (amido, talco e amido+talco) e com um produto comercial triturado (comprimido). Cada solução foi preparada com uma concentração correspondente a 100% da quantidade declarada dissolvido na solução ácida selecionada. As soluções dos excipientes puros não devem apresentar absorbância na região de máximo ou esta deve ser mínima em relação ao observado para o atenolol, enquanto as misturas não devem

alterar a região de absorbância, ou novamente esta deve ser mínima.

Seletividade

Para avaliar a seletividade, foi realizado um estudo de degradação forçada do fármaco. Soluções de atenolol SQR 0,1mg.mL⁻¹ foram submetidas à hidrólise básica pela adição de solução de NaOH 1mol.L⁻¹ e também à reação de oxidação com solução de H₂O₂ 10% (ambos ensaios na proporção 1:3 entre a solução de atenolol e o reagente de degradação). As soluções foram mantidas em temperatura ambiente e analisadas após 72 horas em 273nm.

Precisão: repetibilidade e precisão intermediária

A repetibilidade do procedimento analítico foi determinada por meio da análise de seis soluções de mesma concentração (100% - 0,1mg.mL⁻¹) pelo mesmo método, sob as mesmas condições de medição, mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento e mesmo dia. Já a precisão intermediária foi avaliada no mesmo laboratório, utilizando o mesmo equipamento, porém em dias diferentes e com analistas diferentes. O coeficiente de variação (CV%) máximo permitido é de 5% (ANVISA, 2003).

Exatidão

A exatidão do método foi avaliada pela análise em triplicata de soluções de atenolol SQR em concentrações baixa (0,05mg.mL⁻¹), média (0,1mg.mL⁻¹) e alta (0,15mg.mL⁻¹). A Anvisa (não define limites específicos para a recuperação, portanto uma recuperação entre 95% a 105% é considerada satisfatória (PEDROSO, 2009; SILVA et al., 2007; DUARTE et al, 2007).

Robustez

A robustez foi verificada utilizando-se as recomendações da RE 899/2003 (ANVISA, 2003) para métodos que utilizam espectrofotometria UV-VIS. Assim, foram verificados os efeitos da variação do pH da solução, temperatura e marca do solvente. Os testes foram realizados em triplicata e em concentração de 100% (0,1mg.mL⁻¹).

Aplicação do método

A metodologia validada foi testada em duas marcas de atenolol matéria prima e também em três marcas de comprimidos industrializados: o medicamento de referência (Atenol®, AstraZeneca, Lote 04618), reconhecido pela Anvisa (2009), uma marca classificada como medicamento genérico e uma terceira classificada como medicamento

similar. A metodologia utilizada para a análise dos comprimidos também é descrita na F. Bras. V (FARMACOPÉIA, 2010), e constitui-se em uma variação do método para análise da matéria prima.

Para a preparação das amostras, foram pulverizados 20 comprimidos, sendo transferida uma quantidade de pó equivalente a 0,20g para um balão volumétrico de 200mL. Adicionou-se 120mL de HCl 0,01mol.L⁻¹. Em seguida, a suspensão foi aquecida a 60°C por 10 minutos, agitando-a ocasionalmente. Após este período, a suspensão foi deixada sob ultra-som por 15 minutos. O volume foi completado com HCl 0,01mol.L⁻¹, e depois foi filtrado. O sobrenadante foi diluído sucessivamente em HCl 0,01mol.L⁻¹ até concentração de 0,1mg.mL⁻¹. Os resultados foram obtidos através da equação da reta obtida no estudo da linearidade. As amostras

analisadas também tiveram seu teor analisado pelo método oficial com metanol (FARMACOPÉIA, 2010), e os resultados foram comparados com os do método proposto.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Escolha do solvente.

Os espectros UV (faixa de 250 a 300nm) nos solventes avaliados foram equivalentes (Figura 2). Todas as soluções ácidas apresentam pico máximo de absorção equivalente ao metanol (273-275nm). Isto indica que a espectrofotometria UV pode ser usada com qualquer um dos solventes avaliados. Em relação à linearidade, observa-se que em todos os casos, a Lei de Beer foi obedecida, com coeficiente de correlação ($R \geq 0,99$).

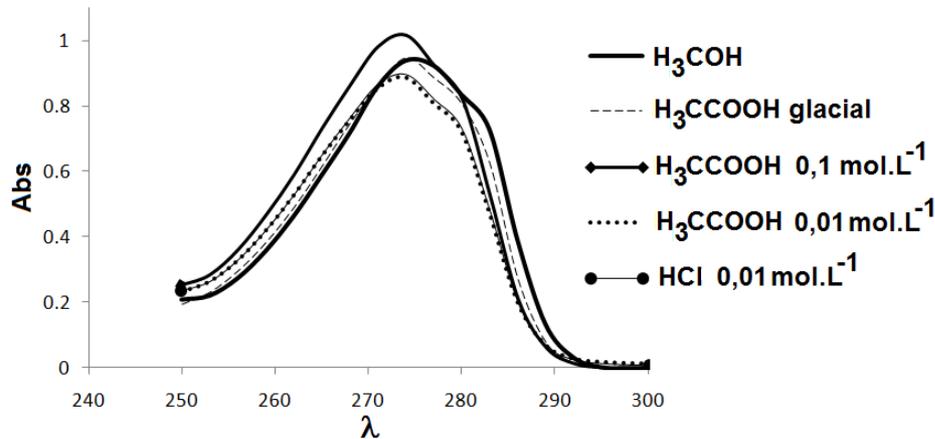


Figura 2. Espectros de varredura obtidos em soluções de atenolol SQR em diferentes solventes.

Desta forma, optou-se pelo uso da solução de HCl 0,01mol.L⁻¹ (absorção máxima em 273nm) pois além de apresentar absorvância e linearidade adequados aos objetivos do trabalho, é de fácil preparação, baixo custo, não é inflamável e, por ser diluída, possui menor toxicidade que o metanol. Também não apresenta odor característico como as soluções de H₃CCOOH, facilitando seu manuseio, e seus resíduos podem ser facilmente tratados por neutralização com uma base diluída, como o hidróxido de sódio (FONSECA, 2009).

Validação do método

Linearidade e Limites de Detecção e Quantificação

A linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003). No presente caso, o método mostrou-se linear no intervalo entre 80 a 130% (Figura 3). O coeficiente de correlação (R) foi de 0,9996, atendendo assim as

exigências da Anvisa (mínimo de 0,99). A equação da reta encontrada, $ABS = 4,5520C + 0,0079$ (para mg.mL⁻¹), foi aplicada aos outros testes para obtenção das concentrações do padrão e amostras. Também foram determinados os limites LD e LQ, sendo estes 0,0125 e 0,0158 mg.mL⁻¹ respectivamente.

Especificidade

A especificidade é a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto em presença de outras substâncias, como impurezas e componentes da matriz (ANVISA, 2003). Neste caso, nenhum dos excipientes presentes no placebo apresentou absorção relevante na região próxima a 273nm (Figura 4A). Os espectros da substância SQR contaminada com excipientes, assim como o espectro de um produto comercial (comprimido) mostram que, em mistura, os excipientes não interferem na absorvância do atenolol (Figura 4B). Assim, pode-se considerar que o método é específico.

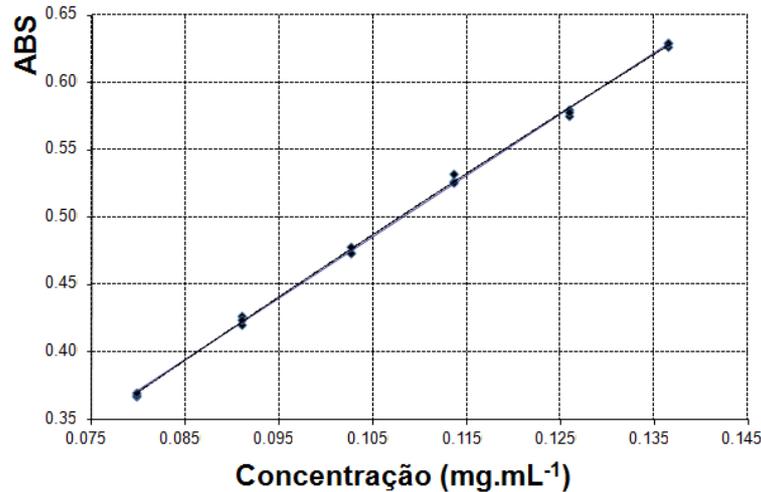


Figura 3. Representação gráfica da curva de calibração do atenolol SQR obtida por espectrofotometria UV ($\lambda=273$ nm).

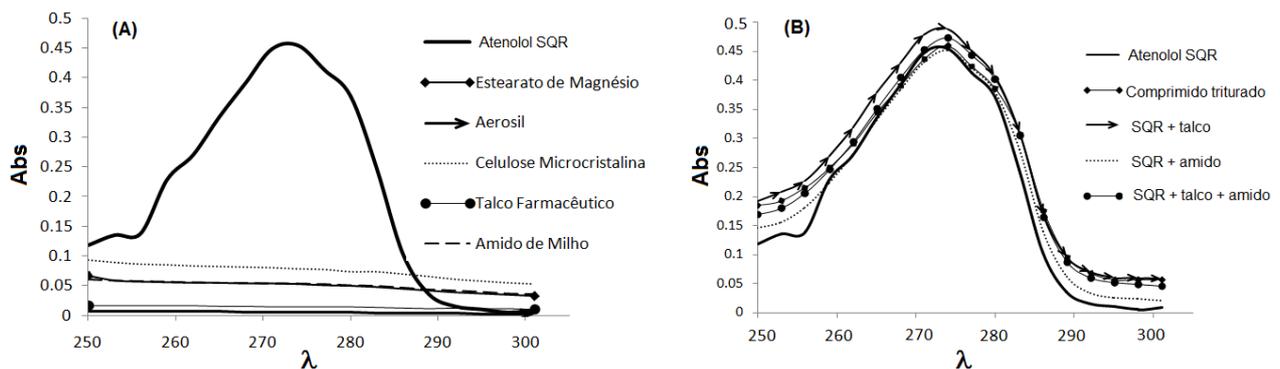


Figura 4. Espectro de absorção do atenolol SQR $0,1\text{mg.mL}^{-1}$. (A) comparação dos espectros da SQR e dos excipientes isolados; (B) comparação do espectro do SQR isolado com o espectro de um produto comercial triturado e de misturas de SQR e excipientes (amido e talco farmacêutico). Todos os testes foram realizados em HCl $0,01\text{ mol.L}^{-1}$.

Seletividade

A seletividade avalia a capacidade do método em diferenciar o fármaco de outras substâncias estruturalmente semelhantes, como os produtos de degradação (ANVISA, 2003). Sob condições de oxidação, obteve-se degradação do fármaco de 78,54%. Sob hidrólise básica, a degradação pode ser considerada baixa (2,49%), mas suficiente para variar os resultados obtidos em cada replicata na mesma proporção, o que indica que o fenômeno realmente ocorreu (Tabela 1). Além disso, este resultado foi praticamente idêntico aquele obtido por Weich (2007) em seu estudo com soluções de atenolol em tampão acetato de sódio (2,5%). Estes resultados (Tabela 1) mostram que a substituição do H_3COH pelo HCl $0,01\text{ mol.L}^{-1}$ não

alterou a seletividade do procedimento analítico, indicando que o método é sensível o suficiente para evitar que a presença de estruturas similares decorrentes da degradação não interfiram na dosagem do atenolol. Assim como Weich (2007), a degradação em meio ácido (HCl 0,5 M) também não ocorreu, porém este fato era esperado considerando a razoável estabilidade.

Repetibilidade e precisão intermediária

As medições relacionadas à repetibilidade são apresentadas na Tabela 2, onde o coeficiente de variação (CV) foi mais de dez vezes menor que o máximo exigido (5%). Quanto à precisão intermediária (Tabela 3), pode-se observar que os resultados do CV do segundo analista, em um dia diferente, foram

praticamente o mesmo daquele obtido para o analista 1, também ficando muito abaixo do limite

máximo de 5% (ANVISA, 2003).

Tabela 1. Resultados para avaliação da seletividade do método.

Solução	Concentração Preparada (mg.mL ⁻¹)	Abs Esperada	Abs Medida (DP)*	Teor (%)	Degradação (%)
Padrão (amostra sem estresse)	0,100	-	0.424 (±0.003)	100	0
Hidrólise Básica	0,104	0.441	0.430 (±0.003)	97,51	2,49
Oxidação	0,100	0.424	0.091 (±0.003)	21,46	78,54

*média de três replicatas; DP: desvio padrão.

Tabela 2. Resultados para avaliação da repetibilidade do método.

Concentração Referência (mg.mL ⁻¹)	Concentração medida (mg.mL ⁻¹)	Recuperação (%)
0,1129	0,1104	97,72
0,1130	0,1110	98,23
0,1130	0,1102	97,44
0,1131	0,1110	98,15
0,1129	0,1099	97,33
0,1130	0,1106	97,84
Média		97,82
CV(%)		0,36

Tabela 3. Resultados para avaliação da precisão intermediária do método.

Concentração Referência (mg.mL ⁻¹)	Concentração Medida (mg.mL ⁻¹)	Recuperação (%)
0,1129	0,1104	97,72
Dia 1	0,1130	98,23
Analista 1	0,1130	97,44
	0,1131	98,15
	0,1129	97,33
	0,1130	97,84
Média		97,82
CV(%)		0,36
0,1118	0,1106	98,93
Dia 2	0,1118	97,94
Analista 2	0,1117	98,66
	0,1119	98,21
	0,1117	98,39
	0,1118	98,75
Média		98,48
CV(%)		0,37

Exatidão

A exatidão do método, que compreende a proximidade dos resultados obtidos em relação ao valor real (ANVISA, 2003), ou seja, o teor da solução preparada com a SQR, foi avaliada através da recuperação do fármaco. A Tabela 4 apresenta os valores de recuperação obtidos em cada concentração de padrão. A porcentagem média encontrada foi de 98,01% estando de acordo com os limites estabelecidos (95 a 105%) pela Anvisa (ANVISA, 2003).

Robustez

A robustez avalia a capacidade de um método em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos, indicação da confiança do procedimento para o uso regular (JORNADA e PIZZOLATO, 2007). Para a validação de métodos analíticos que utilizam espectrometria UV, a RE 899/2003 (ANVISA, 2003) recomenda realizar testes com variações de temperatura, pH e marca do reagente analítico (Tabela 5).

Tabela 4. Resultados para avaliação da exatidão do método.

Concentração Referência (mg.mL ⁻¹)	Concentração Medida (mg.mL ⁻¹)	Recuperação (%)
0,0566	0,0546	96,47
0,0566	0,0544	96,11
0,0566	0,0553	97,70
0,1129	0,1122	99,38
0,1129	0,1106	97,96
0,1129	0,1112	98,49
0,1695	0,1674	98,76
0,1695	0,1674	98,76
0,1695	0,1668	98,41

Tabela 5. Parâmetros utilizados no ensaio de robustez.

Parâmetro	Nominal	Variação
Temperatura	22° C	25° C
pH	1,93	1,81
Marca do reagente	Vetec	Quimex

Com base nos dados apresentados na Tabela 6 e dos testes estatísticos, *F* e *t-student* pareado, foi possível observar que as alterações no procedimento levaram a variações não significativas, a 5% de significância, dos resultados, e assim a metodologia pode ser considerada robusta.

Aplicação do método

Os resultados apresentados na Tabela 7 mostram que, com base nos testes *F* e *t-student*, não há diferenças significativas entre o método proposto e o método oficial da F. Bras. V, tanto para matérias primas quanto para comprimidos, a 5% de significância.

Tabela 6. Resultados para avaliação da robustez do método

Parâmetro	Amostras (%)			Média (%)	CV (%)	<i>F</i> (cal)	<i>F</i> ($\alpha=0,05$)	<i>t</i> (cal)	<i>t</i> ($\alpha=0,05$)
	1	2	3						
<i>Nominal</i>	99,46	98,41	99,86	99,24	0,76	-	-	-	-
Temperatura	99,26	98,61	99,86	99,24	0,63	1,4172	19,1643	0,0000	4,303
pH	99,70	99,26	99,58	99,51	0,11	10,6333	19,1643	0,5975	4,303
Reagente	100,95	100,51	101,27	100,91	0,38	1,7074	19,1643	3,4346	4,303

Tabela 7. Resultado do teor de atenolol matéria prima e comprimidos

Amostra	Método proposto	Método oficial	<i>F</i> (cal)	<i>F</i> ($\alpha=0,05$)	<i>t</i> (cal)	<i>t</i> ($\alpha=0,05$)
Matéria prima 1	99,31%	99,80%	4,961	19,1643	0,832	4,303
Matéria prima 2	96,87%	97,77%	3,411	19,1643	2,732	4,303
Atenol 25 mg/cp (referência)	94,71%	95,99%	4,662	19,1643	2,116	4,303
Genérico 25mg/cp	93,88%	91,08%	3,433	19,1643	3,391	4,303
Similar 25 mg/cp	101,98%	100,24%	2,336	19,1643	4,010	4,303

Na avaliação dos teores de atenolol em matérias primas comerciais e comprimidos industrializados, os valores médios encontrados estão entre 91 e 102%. Segundo a F. Bras. V, o atenolol matéria prima deve conter de 98,0% a 102,0%. Desta forma, observa-se que a matéria prima 1 está dentro deste limites, ao contrário do

que ocorreu com a matéria prima 2. Já os comprimidos industrializados devem conter de 90,0% a 110,0% da quantidade declarada de atenolol (FARMACOPEIA, 2010). Assim, o

CONCLUSÕES

O método proposto possui como principal vantagem a substituição do metanol por uma solução diluída de HCl, reduzindo assim o potencial para danos ambientais e a saúde em analistas envolvidos no uso e descarte dos resíduos de metanol gerados na etapa de controle de qualidade de medicamentos produzidos com o princípio ativo atenolol.

A metodologia mostrou-se adequada, pois foi devidamente validada de acordo com as

exigências da Anvisa e pode substituir a metodologia oficial recomendada pela F. Bras. V, pois não houve diferenças significativas entre os resultados obtidos por ambas as técnicas.

AGRADECIMENTOS

A Fundação Fiocruz pela doação de atenolol SQR, e a SETI/Unidade Gestora do Fundo Paraná (UGF), pelos recursos para implantação do Lefuvel/Unioeste, cuja infra-estrutura foi utilizada na elaboração deste trabalho.

ABSTRACT: One of the tests described in the Farmacopéia Brasileira 5ª Edição (F. Bras. V) to assay the antihypertensive drug atenolol as raw material and tablets use ultraviolet spectrophotometry (UV). However, the solvent is methanol, a flammable and toxic chemical agent whose chemical residues are not easily manageable. Therefore, it is necessary to develop analytical methods that are safer and environmentally appropriate. Considering that atenolol is soluble in dilute acid solutions, the use of hydrochloric acid 0.01 mol L⁻¹ as solvent was evaluated as an alternative method. For this, it was performed a validation of the new method assessing its linearity, specificity, selectivity, range, limit of quantification and detection, precision, accuracy and robustness. All figures of merit were within the limits recommended by the Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). The comparison with the original method showed statistical equivalence between the procedures. Thus, the new method was considered suitable as a safer and more environmentally appropriate for quality control of the production of drugs with atenolol by pharmaceutical industries.

KEYWORDS: Atenolol. Spectrophotometry. Validation studies. Green chemistry. Metanol. Medicines.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2003. Resolução nº 899, de 29/05/2003: Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos, Ministério da Saúde. Brasil, 2003.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 2009. Lista de Medicamentos de Referência, Ministério da Saúde. Brasil, 2009. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/referencia/lmr_a.pdf. Acesso em 23 mar. 2009.

ARGEKAR, A. P.; POWAR, S. G. Simultaneous determination of atenolol and amlodipine in tablets by high-performance thin-layer chromatography. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 21, n. 6, p. 1137-1142, jan. 2000.

BARROS, C. B. Validação de Métodos Analíticos. **Biológico**. v. 64, n. 2, p. 175-177, jul/dez. 2002.

BONAZZI, D.; GOTTI, R.; ANDRISANO, V.; CAVRINI, V. Derivative UV spectrophotometric determination of atenolol and metoprolol in single-and multi-component pharmaceutical, dosage forms. **Farmaco**. V. 51, n.11, p. 733-738, nov. 1996.

BRASIL. Portaria do Ministério do Trabalho n. 3.214, de 08 de junho de 1978. Aprova e Regulamenta as Normas Regulamentadoras de Segurança e Saúde do Trabalho. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 08 jul. 1978.

BRIGUENTI, A. C. C.; BONATO, P. S. Quantitative analysis of beta-blockers in pharmaceutical preparations by capillary electrophoresis. **Drug development and industrial Pharmacy**. v. 31, n. 2, p. 209-214, jan. 2005.

CASTRO, R. A. Antagonistas adrenérgicos seletivos beta 1: estrutura do atenolol. 2006. 178 f. Dissertação (Doutorado em Química Farmacêutica) – Curso de Pós-Graduação em Química Farmacêutica, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2006.

DUARTE, L. T.; SILVA, E. M.; SOUSA, A. L.; LOPES, E. F.; MORAIS, H. L.; BARA, M. T. F. Desenvolvimento e validação de metodologia espectrofotométrica para doseamento de furosemida matéria-prima. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 4, n. 2, p. 78-81, mai/ago. 2007.

Farmacopéia Brasileira. 5. ed. Brasil: Anvisa, 2010.

FERREIRA, A. O. **Guia prático da farmácia magistral**. 2. ed. Juiz de Fora: Ortofarma, 2002.

FREGONEZI-NERY, M. M.; BARACAT, M. M.; CASAGRANDE, B.; MACHADO, H. T.; MIGLIORANZA, B.; GIANOTTO, E. A. S. Validação de métodos para determinação de fluoxetina em cápsulas. **Química Nova**. v. 31, n. 7, p. 1665-1669, jul. 2008.

FONSECA, J. C. L. **Manual para gerenciamento de resíduos perigosos**. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2009.

GOYAL, R. N.; GUPTA, V. K.; OYAMA, M.; BACHHETI, N. Differential pulse voltammetric determination of atenolol in pharmaceutical formulations and urine using nanogold modified indium tin oxide electrode. **Electrochemistry Communications**. v. 8, n. 1, p. 65-70, jan. 2006.

HASSAN, S. S.; ABOU-SEKKINA, M. M.; EL-RIES, M. A.; WASSEL, A. Polymeric matrix membrane sensors for sensitive potentiometric determination of some beta-blockers in pharmaceutical preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 32, n. 1, p. 175-180, Apr. 2003.

IPCS International Programme on Chemical Safety. Poisons Information Monograph 335. Disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim335.htm>>, Acesso em: 28 nov. 2010a.

_____. Health and Safety Guide No. 105. Disponível em: <http://www.inchem.org/documents/hsg/hsg/v105hsg.htm>. Acesso em: 28 nov. 2010b.

JORNADA, D. H.; PIZZOLATO, M. Sistemática para Avaliação da Robustez de Métodos de Ensaio Através de Projetos de Experimentos. In: ENQUALAB-2007 – CONGRESSO DA QUALIDADE EM METROLOGIA REDE METROLÓGICA DO ESTADO DE SÃO PAULO – REMESP, 2007, São Paulo. Disponível em <http://www.portalcertificar.com.br/download.php?arquivo=art_17.pdf>.

KEITH, L. H.; GRON, L. U.; YOUNG, J. L. Green Analytical Methodologies. **Chemical Reviews**. v. 107, n. 6, p. 2695-2708, 2007.

LANGONI, A. S.; ROSEMBERG, D. B.; RICO, E. P.; MENEZES, F. P.; WYSE, A. T.; BOGO, M. R.; SILVA, R. S.; BONAN, C. D. Influência do metanol sobre a atividade da Na⁺, K⁺-ATPase em membranas cerebrais de zebrafish (Danio rerio). In: ANAIS DO X SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL, 2009, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, 2009. p. 145-147.

LARINI, L. **Toxicologia**. 3. ed.. São Paulo: Manole, 1997.

LIMA, R. G. C. Resíduos industriais – métodos de tratamento e análise de custos. 2007. 18 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Ambiental) – Curso de Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Católica de Goiás, Brasil, 2007.

LUNDGREN, B.; CARLSSON, E.; HERRMANN, I. 1979, β -Adrenoceptor blockade by atenolol, metoprolol, and propranolol in the anesthetized cat. **European Journal of Pharmacology**. v. 55, n. 3, p. 263-268, may. 1979.

MINISTÉRIO DO TRABALHO E EMPREGO, 1978. Portaria 3.214. Brasil, 1978. NIKOLELIS, D. P.; PETROPOULOU, S. S. E.; MITROKOTSA, M. V. A minisensor for the rapid screening of atenolol in pharmaceutical preparations based on surface-stabilized bilayer lipid membranes with incorporated DNA. **Bioelectrochemistry**. v. 58, n. 1, p. 107-112, nov. 2002.

OSCANOA, P. E.; SIERRA, L. M.; MIYAHIRA, J. Características clínicas y evolución de los pacientes con intoxicación por metanol atendidos en un hospital general. **Revista Medica Herediana**. v. 21, n. 2, p. 70-76, apr. 2010.

P. R. **Vade-mécum de medicamentos 2003-2004**, 9. ed. São Paulo: Soriak, 2003.

PEDROSO, C. F. Desenvolvimento e validação de um método por CLAE, para determinação simultânea de losartano e anlodipino em associações utilizadas no tratamento da hipertensão arterial. 2009. 80 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) Curso de pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.

PEREIRA, A.; SCHESHOWITSCH, K.; CRUZ, A.; SILVA, M.; STULZER, H. Validação de metodologia analítica para quantificação de piroxicam em cápsulas de gelatina por espectrofotometria ultravioleta (UV). **Visão Acadêmica**. v. 8, n.2, p. 1518-5192, dez. 2007.

RIBEIRO, F. A. L.; FERREIRA, M. M. C.; MORANO, S. C.; SILVA L. R.; SCHNEIDER, R. P. Planilha de validação: uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova**. v. 31, n. 1, p. 164-171, jan. 2008.

RICO, E. P. 2007. 110 f. Influência do metanol e do etanol sobre a atividade e a expressão gênica das ectonucleotidases e acetilcolinesterase em cérebro de zebrafish (*Danio rerio*). Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

SHAFATI, A.; CLARK, B. J. Development and validation of a capillary zone electrophoretic method for the determination of atenolol in presence of its related substances in bulk and tablet dosage form. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 14, n. 11, p. 1547-1554, aug. 1996.

SHAMSIPUR, M.; JALALI, F.; HAGHGOO, S. Preparation of an Atenolol Ion-Selective Electrode and its Application to Pharmaceutical Analysis.

Analytical Letters. v. 38, n. 3, p. 401-410, fev. 2005.

SILVA, E. M.; DUARTE, L. T.; SOUSA, A. L.; LOPES, E. F.; MORAIS, H. L.; BARA, M. T. F. Desenvolvimento e validação de metodologia espectrofotométrica para doseamento de mebendazol matéria-prima. **Revista Eletrônica de Farmácia**. v. 4, n. 2, p. 36-39, mai/ago. 2007.

SMITH, C.; TEITLER, M. Beta-blocker selectivity at cloned human beta 1- and beta 2-adrenergic receptors. **Cardiovascular Drugs Therapy**. v. 13, n. 2, p. 123-126, abr. 1999.

TOXNET: Toxicology Data Network, U.S. National Library of Medicine. Disponível em: <<http://toxnet.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 25 nov. 2010.

WEICH, A. 2007. 100 f. Otimização da avaliação da matéria prima e comprimidos de atenolol: aplicação em produção, controle e registro de medicamento genérico. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.