

2 Parte experimental

2.1. Equipamentos

O equipamento usado para o desenvolvimento do método e análises de sibutramina a partir de medidas voltamétricas foi o analisador voltamétrico da Metrohm, modelo 757 VA Computrace acoplado a um sistema de multieletrodos formado pelo eletrodo de mercúrio (eletrodo de trabalho), eletrodo auxiliar de platina e eletrodo de referência Ag/AgCl ($\text{KCl } 3 \text{ mol L}^{-1}$).

A balança analítica digital (sensibilidade 0,01 mg) da Mettler Toledo modelo AG 285 foi usada nas medições de massa de padrões, medicamentos, alimentos protéicos e demais reagentes. O pHmetro digital Micronal modelo B-474 foi usado nas medições de pH da solução do eletrólito suporte.

As determinações cromatográficas foram realizadas no cromatógrafo modelo Waters com detector UV (comprimento de onda selecionado 230 nm). A coluna cromatográfica era C8 de 250 x 4 mm (tamanho de partícula médio de 5 μm). A fase móvel foi uma solução 0,05% v/v ácido trifluoracético e acetronitrila 70:30 e o diluente da amostra foi o metanol. O volume da amostra injetado foi 15 μL .

Todas as vidrarias volumétricas utilizadas estavam calibradas.

2.2. Soluções e reagentes

Água ultrapura foi obtida de um sistema Milli-Q da Millipore modelo Simplicity 185. Todos os reagentes utilizados (ácido acético glacial, ácido fosfórico, ácido bórico e ácido cítrico, hidróxido de sódio, fosfato monoácido de sódio, ftalato de potássio ácido, acetato de sódio e metanol) foram de grau analítico da Merck (Darmstadt, Alemanha).

O padrão de cloridrato de sibutramina usado foi um padrão de referência da Abbott lote 553899W e pureza 99,6 %.

2.3.

Preparo das soluções tampão

Os tampões McIlvaine pH 4,0 a 7,0 foram preparados a partir de quantidades determinadas de solução Na_2HPO_4 $0,2 \text{ mol L}^{-1}$ e de solução de ácido cítrico $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ para obter o valor de pH desejado (Morita, 1981). As soluções-tampão Britton-Robinson (tampão BR) (pH 2 a 12) foram preparadas a partir de uma mistura de solução $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ formada pelos ácidos acético, fosfórico e bórico, seguido pela adição de NaOH 2 mol L^{-1} de modo a obter o valor de pH desejado (medido com pHmetro). A solução tampão de ftalato ácido de potássio pH 4,0 foi preparada pela adição de 50,0 mL $\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4\text{K}$ $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e 0,4 mL NaOH $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e completado com água desionizada para um balão volumétrico de 100 mL. A solução tampão acetato pH 3,5 e 4,5 foram preparadas a partir de volumes determinados de acetato de sódio 2 mol L^{-1} e ácido acético 2 mol L^{-1} e completado com água desionizada para um balão volumétrico de 100 mL (Morita, 1981).

2.4.

Preparo das soluções padrão

A solução padrão de sibutramina 300 mg L^{-1} foi preparada a partir da dissolução de 30 mg de padrão de cloridrato de sibutramina em água desionizada para um balão volumétrico de 100 mL. A solução padrão de sibutramina 500 mg L^{-1} foi preparada a partir da diluição de 50 mg do padrão em metanol para um balão volumétrico de 100 mL e completado o volume do balão volumétrico com metanol.

2.5.

Preparo e análise das amostras de medicamentos e de alimentos protéicos

Amostras de medicamentos de três laboratórios farmacêuticos diferentes foram usadas: Novartis (Sandoz[®] 15 mg/cápsula, lote 41748R e lote 43140), EMS Sigma Pharma (Vazy[®] 10 mg/cápsula lote 128734), Aché Laboratórios Farmacêuticos (Biomag[®] 10 mg/cápsula lote 0705169A e Biomag[®] 15 mg/cápsula lote 0205844). Para as análises de medicamento por DPV e SWV, pesou-se exatamente e individualmente, 20 cápsulas de cada medicamento contendo o princípio ativo e após a remoção do conteúdo pesou-se as cápsulas

vazias, onde a diferença entre a cápsula cheia e vazia correspondeu à quantidade do sólido presente. Após ser feita a média destes valores, uma relação entre o valor médio obtido e a quantidade do princípio ativo declarado pelo fabricante foi obtida.

Para cada lote do medicamento analisado foram preparadas dez amostras independentes, pesando-se uma quantidade apropriada da amostra e dissolvendo em água desionizada para um balão volumétrico de 25,0 mL. Pipetou-se 750 μL da amostra para a célula eletrolítica contendo 10,0 mL de tampão McIlvaine pH 4,0. As amostras de medicamento foram analisadas em triplicata nas curvas analíticas foram preparadas para cada técnica e nas condições pré-estabelecidas na otimização do método.

Para as análises de medicamento por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e por DPV, sete amostras independentes do medicamento Biomag[®] (15 mg) foram preparadas. Uma solução da amostra 300 mg L⁻¹ foi preparada pela diluição de 94,6 mg de Biomag[®] em metanol e completado para balão volumétrico de 20 mL. A amostra foi deixada em banho de ultrassom por 10 minutos e em seguida foi adicionado o mesmo solvente até completar o balão volumétrico de 20 mL.

Três soluções independentes, para cada uma das duas amostras do alimento protéico para atletas GF-1[®] (lotes 16174 e 17343), foram preparadas diluindo 1,0 mL do conteúdo da amostra em 20,0 mL de metanol. Estas soluções foram analisadas por CLAE e por DPV. Para as análises por DPV, curvas de adição padrão foram preparadas a partir da adição de 0,5 mL desta solução à célula eletrolítica e cinco adições consecutivas de 250 μL da solução padrão de sibutramina 300 mg L⁻¹.

2.6.

Preparo das curvas analíticas de sibutramina

Para as técnicas voltamétricas DPV e SWV, foram preparadas duas curvas analíticas de sibutramina a partir de cinco adições de 250 μL da solução padrão de sibutramina da Abbott (lote 543699W) 300 mg L⁻¹ à célula eletrolítica contendo 10,0 mL do eletrólito suporte tampão McIlvaine pH 4,0. Cada valor da curva foi o resultado médio de quatro replicas da medição da corrente para cada valor de concentração (7,3; 14,3; 20,9; 27,8; 33,3 mg L⁻¹) de sibutramina.

A curva analítica da sibutramina para CLAE foi preparada usando uma solução padrão 500 mg L⁻¹. A partir desta solução foram preparadas soluções padrão 100; 200; 300 e 400 mg L⁻¹ de sibutramina.