

*UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS*  
*CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA*  
*PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA*

**ESTRATÉGIAS PARA A DETERMINAÇÃO DE MINOXIDIL**

Rogério Adelino de Sousa

SÃO CARLOS

2006

*UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS*  
*CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA*  
*PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA*

**ESTRATÉGIAS PARA A DETERMINAÇÃO DE MINOXIDIL**

Rogério Adelino de Sousa

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Química.

Orientador: Pr. Dr.: Éder Tadeu Gomes  
Cavalheiro

SÃO CARLOS

2006

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S725ed

Sousa, Rogério Adelino de.  
Estratégias para a determinação de Minoxidil / Rogério  
Adelino de Sousa. -- São Carlos : UFSCar, 2007.  
103 f.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São  
Carlos, 2005.

1. Química analítica. 2. Minoxidil. 3. Titulação. 4. FIA  
(Flow Injection Analysis). 5. Permanganato de potássio. 6.  
Dicromato de potássio. I. Título.

CDD: 543 (20<sup>a</sup>)

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS**  
*Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia*  
*Departamento de Química*  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**  
**Curso de Mestrado**

---

*Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou o exame de dissertação de mestrado do candidato Rogério Adelino de Sousa realizado em 25 de julho de 2005:*



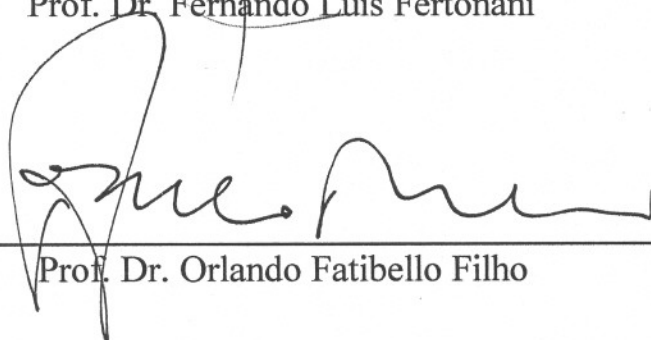
---

Prof. Dr. Éder Tadeu Gomes Cavalheiro



---

Prof. Dr. Fernando Luis Fertonani



---

Prof. Dr. Orlando Fatibello Filho

DEDICO ESTA DISSERTAÇÃO AOS MEUS PAIS,  
IRMÃ E ESPOSA POR TODO INCENTIVO, AMOR  
E CARINHO.

AO Pr. Dr. ÉDER TADEU GOMES CAVALHEIRO  
TODA A MINHA GRATIDÃO PELA ORIENTAÇÃO,  
CREDIBILIDADE, PACIÊNCIA E PELA GRANDE  
AMIZADE.

## AGRADECIMENTOS

- Aos meus pais e minha irmã pelo apoio, confiança e incentivo.
- À minha esposa, Raquel, pelo incentivo, confiança e amparo.
- Ao amigo Glimaldo Marino pela grande amizade, pelos conselhos, comentários críticos e apoio.
- Ao amigo Prof. Dr. Gilberto Orivaldo Chierice pela amizade, pelos comentários críticos.
- Ao amigo Felipe Silva Semaan pela cooperação em trabalhos e pela amizade.
- Ao amigo Luiz Antônio Ramos, por toda ajuda e pela amizade.
- Aos amigos Yuri, Luiz Humberto, Fernando, Igor, Vitor e Marcos, pela amizade e pelo apoio.
- Ao amigo Salvador pela amizade e pelo fornecimento da poliuretana
- Aos amigos do LATEQS
- Aos tantos amigos do DQ / UFSCar
- Ao PPGQ / UFSCar
- Às meninas do PPGQ / UFSCar, Ariane, Cristina e Luciane, por toda ajuda.
- Aos amigos do IQSC / USP.
- Ao IQSC / USP.

## APRESENTAÇÃO

No presente trabalho são propostos métodos para a determinação de minoxidil os quais foram aplicados em amostras comerciais contendo o composto. O minoxidil (3-óxido-2,4-diamino-6-pipedinopirimidina) é usado no tratamento da *Hipertensão Arterial* e da *Alopécia Areata*. Aqui estão descritos métodos analíticos de determinação envolvendo procedimentos titrimétricos clássicos, com detecção espectrofométrica e um procedimento baseado na injeção em fluxo.

A dissertação é apresentada em capítulos, ordenados por assuntos e divididos em seções e subseções descritos a seguir. No Capítulo 1 é apresentada a introdução geral, a qual contém considerações sobre o analito e as técnicas usadas nesse trabalho. No Capítulo 2 são apresentados os objetivos do trabalho. No capítulo é apresentada a revisão bibliográfica.

O Capítulo 3 apresenta informações sobre a procedência dos reagentes e das amostras comerciais. No Capítulo 4 é feita uma discussão sobre testes qualitativos e a oxidação e a redução do minoxidil. O capítulo 5 propõe um método comparativo para a determinação da concentração minoxidil presente nas amostras comerciais, baseado em cromatografia líquida de alta performance.



Os capítulos 6, 7, 8 e 9 correspondem aos procedimentos propostos para a determinação de minoxidil. Estes capítulos são divididos em Introdução, Experimental, Resultados e Discussão e Conclusões.

No capítulo 10 são apresentadas as conclusões gerais e perspectivas de trabalhos futuros. Finalmente são apresentadas as referências bibliográficas citadas ao longo de todo o texto.

## RESUMO

### *ESTRATÉGIAS PARA A DETERMINAÇÃO DE MINOXIDIL*

No presente trabalho são apresentados métodos para a determinação de minoxidil em amostras comerciais. O minoxidil é um fármaco que, devido à sua propriedade vasodilatadora é usado no tratamento da *Hipertensão Arterial* e no tratamento da *Alopécia Areata*. Foram analisadas duas amostras comerciais, o *Regaine*<sup>®</sup> (Pharmacia, EUA) e o *Neoxidil*<sup>®</sup> (Galderma, Brasil), sendo ambas soluções de uso tópico contendo 2% de minoxidil m/v (20 mg mL<sup>-1</sup>), em uma mistura de etanol e propilenoglicol como veículo. Foram propostos quatro métodos para a determinação do analito em amostras comerciais. O primeiro foi a determinação titrimétrica de minoxidil em formulações farmacêuticas usando permanganato de potássio na qual foi possível quantificar o minoxidil presente nas amostras comerciais por volumetria, apresentando como resultado do teste de adição e recuperação os valores de 94,5 e 95,3 % para o *Neoxidil*<sup>®</sup> e o *Regaine*<sup>®</sup> respectivamente. O segundo método foi o emprego da titulação espectrofotométrica para a determinação de minoxidil em formulações farmacêuticas usando permanganato de potássio, no qual foi usado um espectrofotômetro para acompanhar o decréscimo da absorvância em 550 nm, apresentando 102,8 % para o *Neoxidil*<sup>®</sup> e 101,0 % para o *Regaine*<sup>®</sup> resultados obtidos no teste de adição e recuperação. O terceiro método foi o uso de da

análise por injeção em fluxo (FIA) para a determinação de minoxidil em formulações farmacêuticas usando permanganato de potássio como reagente redox, no qual foi monitorado o decréscimo da absorbância da solução transportadora de permanganato de potássio em meio ácido por um espectrofotômetro em 550 nm, com temperatura controlada em 50 °C, frequência de amostragem de 32 determinações/hora, limite de detecção de  $8,95 \times 10^{-6}$  mol L<sup>-1</sup> e adição e recuperação de 104,7 a 106,4 % para o *Neoxidil*<sup>®</sup> e o *Regaine*<sup>®</sup> respectivamente. Para finalizar foi proposto um quarto método que consiste na determinação titrimétrica com detecção potenciométrica de minoxidil usando dicromato de potássio como reagente, no qual foi medido o potencial no ponto final da titulação por um eletrodo de platina (trabalho) e por um eletrodo de calomelano saturado empregado como referência a 60 °C e adição e recuperação de 98,7 a 97,4 % para o *Neoxidil*<sup>®</sup> e o *Regaine*<sup>®</sup> respectivamente.

## ABSTRACT

### *STRATEGY FOR THE DETERMINATION THE MINOXIDIL*

Methods for the determination of minoxidil in commercial samples are presented. The minoxidil is a pharmaceutical whose dilation blood vessel property is used in the treatment of the *Arterial Hypertension* and in the treatment of the *Alopecia Areata*. Two commercial samples were analyzed, the *Regaine*<sup>®</sup> (Pharmacia, U.S.A.) and the *Neoxidil*<sup>®</sup> (Galderma, Brazil) both are solutions of topical use containing 2% of minoxidil (20 mg mL<sup>-1</sup>) in a mixture of ethanol and propilenoglicol as vehicle. Four proposals for the determination of minoxidil in commercial samples were considered. The first one was the titrimetric determination of minoxidil in pharmaceutical formulations using potassium permanganate in which it was possible to quantify the amount of minoxidil in the commercial samples by classical titration. In other method it was used a spectrophotometric titration for the determination of minoxidil in pharmaceutical formulations using potassium permanganate, in which the decrease in the absorbance at 550 nm. The third method was the use of the flow injection analysis (FIA) for the determination of minoxidil in pharmaceutical formulations using potassium permanganate as redox reagent, in which the decrease of the absorbance of the carrying potassium permanganate solution in acidic media was monitored spectrophotometrically at 550 nm under controlled temperature at 50 °C. Finally it was considered a method that consists in a potentiometric titration of minoxidil with potassium dichromate, in which the potential difference between is monitored a platinum electrode (working) and a saturated calomel electrode (reference) at 60 °C.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Incidência de <i>Ha</i> na população norte americana.....	5
<b>Tabela 2:</b> Classificação clínica quanto ao nível da pressão arterial ( <i>Pa</i> ) .....	7
<b>Tabela 3:</b> Indicação de tratamento de acordo com o grupo de risco e o nível de <i>Pa</i> .....	8
<b>tabela 4:</b> Valores obtidos pelo método comparativo e valores dos rótulos das amostras comerciais, dados em $\text{mg mL}^{-1}$ .....	30
<b>Tabela 5:</b> Resultados obtidos no estudo da repetitividade do método titrimétrico com $\text{KMnO}_4$ .....	38
<b>Tabela 6:</b> Comparação entre os pontos finais das titulações das amostras com e sem extração do veículo.....	40
<b>Tabela 7:</b> Resultados obtidos na análise da amostra comparados com o rótulo e com o método comparativo .....	41
<b>Tabela 8:</b> Níveis de confiança em que concordam os resultados obtidos pelo método proposto em relação ao rótulo e ao método comparativo.....	42
<b>Tabela 9:</b> Resultados da adição e recuperação.....	43
<b>Tabela 10:</b> Valores de absorvância obtidos em função da concentração de permanganato de potássio.....	54

<b>tabela 11:</b> resultados das titulações espectrofotométricas comparados com o valor rotulado para as amostras comerciais e com o método comparativo cromatográfico.....	59
<b>Tabela 12 :</b> Resultados do teste de adição e recuperação .....	60
<b>Tabela 13:</b> Variáveis em relação aos seus níveis.....	65
<b>Tabela 14:</b> Arranjo dos níveis em relação às variáveis.....	66
<b>Tabela 15:</b> Planejamento fatorial $2^2$ experimentos .....	68
<b>Tabela 16:</b> Resultados da segunda bateria de experimentos.....	69
<b>Tabela 17:</b> Resultados do estudo do efeito da temperatura .....	71
<b>Tabela 18:</b> Parâmetros definidos para a análise por injeção em fluxo .....	73
<b>Tabela 19:</b> Resultados da análise das amostras.....	79
<b>Tabela 20:</b> Erros relativos ao rótulo e ao método comparativo .....	79
<b>Tabela 21:</b> Erros relativos comparados ao rótulo e ao método comparativo.....	84
<b>Tabela 22:</b> Resultados obtidos na titulação potenciométrica.....	94
<b>Tabela 23:</b> Erros relativos ao rótulo e ao método comparativo .....	94

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Fórmula estrutural do minoxidil..... 1
- Figura 2:** Diferentes perfis que podem ser observados em gráficos de absorvância em função do volume de titulante, resultantes de titulações fotométricas. .... 20
- Figura 3:** Curva típica da análise titrimétrica com detecção potenciométrica... 22
- Figura 4:** Primeira derivada da curva potencial vs volume de titulante. .... 23
- Figura 5:** Curva do método de Gran ..... 24
- Figura 6:** Estudo da influência da temperatura na determinação de minoxidil por análise titrimétrica. .... 37
- Figura 7:** Esquema utilizado na análise titrimétrica com detecção espectrofotométrica: c – computador; d – espectrofotômetro; p – bomba peristáltica e b – bureta. .... 46
- Figura 8:** Espectro de absorção dos reagentes e produtos da reação redox entre o permanganato de potássio e o minoxidil, onde: a – solução de minoxidil, b – produtos da reação redox e c – solução de  $\text{KMnO}_4$ ... 49
- Figura 9:** Curva obtida na titulação com detecção espectrofotométrica usando uma solução de minoxidil padrão de concentração  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  sem correção da absorvância. .... 51

- Figura 10:** Curva obtida na titulação com detecção espectrofotométrica usando uma solução de minoxidil padrão de concentração  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  com correção da absorvância..... 52
- Figura 11:** Gráfico da absorvância em função da concentração o qual atende a lei de Lambert-Beer ..... 53
- Figura 12:** Estudo do efeito da concentração de titulante e titulado no ponto final da análise titrimétrica ..... 56
- Figura 13:** Exemplos de curvas de titulações espectrofotométricas do minoxidil padrão na concentração  $9,62 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , *Regaine*<sup>®</sup> e *Neoxidil*<sup>®</sup> ambos diluídos para  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  ..... 58
- Figura 14:** Câmara de poliuretana para o aquecimento da bobina helicoidal.... 63
- Figura 15:** Sistema fia: a – amostra; b – bomba peristáltica; c – solução carregadora; d – espectrofotômetro; i – injetor comutador; r – reator; para o controle de temperatura da bobina helicoidal, acoplado a um banho termostaticado; e – desborbulhador e l – descarte..... 63
- Figura 16:** Superfície de reposta para a otimização da alça de amostragem e do reator helicoidal. .... 70
- Figura 17:** Estudo do efeito da temperatura na reação entre o minoxidil e o permanganato de potássio..... 72
- Figura 18:** Sinais transientes referentes aos decréscimos de absorvância, para a solução carregadora de  $\text{kmno}_4$   $3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  sendo: ..... 74
- Figura 19:** Curva analítica com sete concentrações diferentes de minoxidil e o branco. (n = 3 repetições) ..... 75



<b>Figura 20:</b> Curva analítica com a absorvância logaritimizada. ....	76
<b>Figura 21:</b> Registros dos sinais transientes obtidos para as diferentes concentrações de minoxidil padrão, das amostras comerciais e do branco, sendo: .....	78
<b>Figura 22:</b> Curva potencial em função do volume de minoxidil a 25 °C e adição de 1 minuto para tempo de estabilização e sua derivada 1°. ....	84
<b>Figura 23:</b> Efeito da temperatura nas titulações potenciométricas de minoxidil com dicromato de potássio. ....	85
<b>Figura 24:</b> Curva do potencial em função do volume de titulante a 60 °C.....	86
<b>Figura 25:</b> Curva potenciométrica para <i>Regaine</i> <sup>®</sup> sem a extração do veículo. .	88
<b>Figura 26:</b> Curva potenciométrica para <i>Neoxidil</i> <sup>®</sup> sem a extração do veículo..	89
<b>Figura 27:</b> Curva potenciométrica para <i>Regaine</i> <sup>®</sup> com o veículo extraído. ....	90
<b>Figura 28:</b> Curva potenciométrica para <i>Neoxidil</i> <sup>®</sup> com o veículo extraído.....	91
<b>Figura 29:</b> Curva de Gran do <i>Regaine</i> <sup>®</sup> com ponto final da titulação em 5,76 ml (resultados da figura 27). ....	92
<b>Figura 30:</b> Curva de Gran do <i>Neoxidil</i> <sup>®</sup> com ponto final da titulação em 5,75 ml (resultados da figura 28) .....	93

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1.Considerações sobre a Hipertensão Arterial.....</b>	<b>2</b>
<i>1.1.1. Classificação da Hipertensão Arterial .....</i>	<i>6</i>
<b>1.2.Considerações sobre a Alopecia Areata .....</b>	<b>8</b>
<b>1.3. Análise Titrimétrica .....</b>	<b>10</b>
<i>1.3.1. Titrimetria de Oxirredução.....</i>	<i>12</i>
<i>1.3.2. Titrimetria com <math>KMnO_4</math> .....</i>	<i>12</i>
<i>1.3.3. Titrimetria com <math>K_2Cr_2O_7</math>.....</i>	<i>14</i>
<i>1.3.5. Análise titrimétrica com detecção espectrofométrica.....</i>	<i>15</i>
<b>1.4.Análise por Injeção em Fluxo (FIA).....</b>	<b>24</b>
<b>2.OBJETIVOS .....</b>	<b>26</b>
<b>3. MINOXIDIL PADRÃO E AMOSTRAS COMERCIAIS.....</b>	<b>27</b>
<b>4. TESTES QUALITATIVOS.....</b>	<b>28</b>
<b>4.1. Oxidação do minoxidil .....</b>	<b>28</b>
<b>4.2. Redução do minoxidil .....</b>	<b>29</b>
<b>5. MÉTODO COMPARATIVO .....</b>	<b>30</b>
<b>6. DETERMINAÇÃO TITRIMÉTRICA DE MINOXIDIL EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS USANDO PERMANGANATO DE POTÁSSIO .....</b>	<b>31</b>

<b>6.1 Introdução</b> .....	<b>31</b>
<b>6.2. Experimental</b> .....	<b>32</b>
6.2.1. <i>Reagentes e equipamentos</i> .....	32
6.2.2. <i>Procedimento</i> .....	32
<b>6.3. Resultados e discussão</b> .....	<b>33</b>
6.3.1. <i>Estudo do efeito da ordem da adição de amostra</i> .....	33
6.3.2. <i>Estudo da influência da concentração de ácido sulfúrico</i> .....	34
6.3.3. <i>Estudo da influência das concentrações de minoxidil e de permanganato de potássio</i> .....	35
6.3.4. <i>Estudo da influência da temperatura</i> .....	36
6.3.5. <i>Estudo da repetitividade</i> .....	37
6.3.6. <i>Análise das amostras comerciais</i> .....	39
6.3.7. <i>Teste de adição e recuperação</i> .....	42
<b>6.4. Conclusões</b> .....	<b>43</b>
<b>7. EMPREGO DA TITULAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA A DETERMINAÇÃO DE MINOXIDIL EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS USANDO PERMANGANATO DE POTÁSSIO</b> .....	<b>44</b>
<b>7.1. Introdução</b> .....	<b>44</b>
<b>7.2. Experimental</b> .....	<b>45</b>
7.2.1. <i>Reagentes e equipamentos</i> .....	45
7.1.2. <i>Procedimento</i> .....	47
<b>7.3. Resultados e discussão</b> .....	<b>48</b>
7.3.1. <i>Estudo do efeito do comprimento de onda</i> .....	48

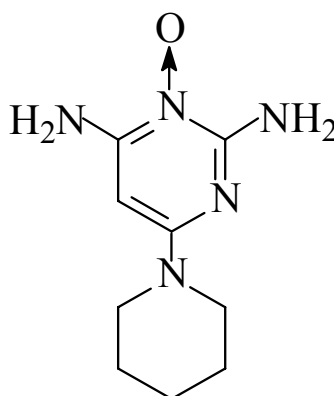
7.3.2 Estudo do efeito da diluição.....	49
7.3.3 Estudo do efeito da concentração de permanganato de potássio .....	52
7.3.5. Parâmetros otimizados.....	57
7.3.6. Análise das amostras comerciais .....	57
7.3.7. Teste de adição e recuperação.....	59
<b>7.4. Conclusões.....</b>	<b>60</b>
<b>8. DETERMINAÇÃO DE MINOXIDIL EM FORMILAÇÕES FARMACÊUTICAS USANDO PERMANGANATO DE POTÁSSIO COMO REAGENTE REDOX EM FLUXO .....</b>	<b>61</b>
<b>8.1. Introdução.....</b>	<b>61</b>
<b>8.2. Experimental.....</b>	<b>62</b>
8.2.1. Reagentes e equipamentos .....	62
8.2.2. Procedimento .....	64
<b>8.3. Resultados e discussão .....</b>	<b>64</b>
8.3.1. Estudo do efeito do comprimento de onda e estudo do efeito da concentração de permanganato de potássio.....	64
8.3.2. planejamento fatorial .....	65
8.3.3. Estudo de efeito da temperatura .....	70
8.3.4. Curva analítica.....	73
8.3.4. Análise das amostras comerciais .....	79
8.3.5. Teste de adição e recuperação.....	80
<b>8.4. Conclusões.....</b>	<b>80</b>

<b>9. DETERMINAÇÃO TITRIMÉTRICA COM DETECÇÃO POTENCIOMÉTRICA DE MINOXIDIL EM AMOSTRAS COMERCIAIS USANDO DICROMATO DE POTÁSSIO COMO REAGENTE .....</b>	<b>81</b>
<b>9.1 Introdução.....</b>	<b>81</b>
<b>9.2. Experimental.....</b>	<b>81</b>
<i>9.2.1. Reagentes e equipamentos .....</i>	<i>81</i>
<i>9.2.2. Procedimento .....</i>	<i>82</i>
<b>9.3. Resultados e discussão .....</b>	<b>83</b>
<i>9.3.1. Estudo do efeito da temperatura .....</i>	<i>83</i>
<i>9.3.2. Análise das amostras comerciais .....</i>	<i>86</i>
<i>9.3.3. teste de adição e recuperação.....</i>	<i>95</i>
<b>9.4. Conclusões.....</b>	<b>95</b>
<b>10. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>96</b>
<b>11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>98</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

Na presente dissertação são apresentadas e discutidas propostas para a determinação de minoxidil em formulações farmacêuticas.

O minoxidil, 3-óxido-2,4-diamino-6-pipedinopirimidina, cuja estrutura é apresentada na Figura 1, é um pó cristalino branco sem odor, insolúvel em água, acetona ou soluções alcalinas, é pouco solúvel em álcoois e bastante solúvel em soluções ácidas, apresentando ponto de fusão de 188,43 °C [1].



**Figura 1:** Fórmula estrutural do minoxidil.

O minoxidil é um fármaco utilizado no tratamento da *Hipertensão Arterial* e da *Alopécia Areata* [2,3]. Dentre os fármacos considerados como anti-hipertensivos, o minoxidil é classificado como vasodilatador periférico, isso se deve ao fato do minoxidil ser uma pró-droga, a qual quando ingerida é metabolizada no fígado pela ação da sulfotransferase, transformando-se na molécula ativa hidralazina. A hidralazina causa relaxamento da musculatura lisa

dos vasos por ativação dos canais de potássio, permitindo fluxo intracelular deste íon, causando hiperpolarização celular. Como a hidralazina produz apenas vaso-dilatação arteriolar [4], não tendo ação em vasos de capacitância, causa ativação simpática reflexa, taquicardia e retenção hidro-salina, devendo também ser usada sempre em conjunto com diuréticos e bloqueadores simpáticos [5,6].

Para os casos de hipertensão severa, que não respondam às demais drogas, é prescrito o tratamento com minoxidil. A dose inicial, administrada oralmente, é de 1,25 mg dia<sup>-1</sup> e que deve ser aumentada gradativamente para, até, 40 mg dia<sup>-1</sup>.

A propriedade vasodilatadora do minoxidil propicia seu uso no tratamento da *Alopécia Areata*, conhecida como pelada, uma forma de calvície, que é uma doença que ocasiona a queda de pêlos e cabelos em pontos distintos do corpo. O medicamento, na forma de solução tópica, é aplicado sobre a pele no local em que ocorreu a queda de pêlos ou cabelos [2,3].

### *1.1.Considerações sobre a Hipertensão Arterial*

O termo *Hipertensão Arterial* refere-se ao fluxo de sangue pelas artérias com uma pressão arterial superior àquela considerada como ideal. O conceito médico mais moderno sobre a *Hipertensão Arterial* define essa moléstia não mais como uma condição clinica que apresenta valores tencionais acima de valores preestabelecidos, mas, sim, como uma síndrome, que engloba alterações hemodinâmicas, tróficas e metabólicas. As alterações hemodinâmicas,

tróficas e metabólicas causam o aumento da pressão sangüínea, resistência insulínica, microalbuminúria, dispilidemias, obesidade, aumento da atividade dos fatores de coagulação e hipertrofia da função diastólica, movimento de dilatação do coração, após a fase de contração, do ventrículo esquerdo [4,5].

Alguns sintomas da *Hipertensão Arterial* são tonturas, dores de cabeça e sangramento pelo nariz. Entretanto, na maioria dos casos, a *Hipertensão Arterial* é uma doença silenciosa, isto é, ocorre sem provocar qualquer tipo de sintoma a não ser o aumento da pressão arterial. Anualmente, a maioria das mortes, provocadas pela hipertensão arterial, são atribuídas à disfunção do sistema cardiovascular e do sistema renal [6].

A *Hipertensão Arterial* pode levar seu portador aos quadros clínicos descritos abaixo [6]:

**a. Arteriosclerose:** é o aumento do diâmetro das artérias, tornando-as menos flexíveis permitindo o acúmulo de placas de gordura em suas paredes obstruindo-as. A obstrução arterial faz com que os rins liberem um hormônio chamado *renina* que ocasiona o aumento da pressão arterial.

**b. Cardiopatia hipertensiva:** é a ação da *arteriosclerose* sobre os vasos coronários que suprem o músculo cardíaco, miocárdio, com sangue. A *cardiopatia hipertensiva* aumenta a atividade coronária para manter o fluxo sangüíneo. O aumento da atividade coronária resulta na dilatação do coração e na hipertrofia do miocárdio tornando o coração mais rígido resultando no acúmulo de líquido pelo corpo todo devido ao bombeamento ineficaz.



**c. Enfermidades renais:** 20% do sangue bombeado se encontra nos rins, cuja função é filtrar e manter com concentração adequada de sais, ácidos e água. Como descrito no item **a**, se o fluxo de sangue é inadequado os rins liberam a *renina* que provoca a vasoconstrição por todo o corpo, gerando um ciclo vicioso que pode levar a falência da função renal.

**d. ICTUS:** palavra originária do latim que se refere a todos os acidentes vasculares cerebrais (AVC). Refere-se ao ataque da arteriosclerose nos vasos cerebrais, causando obstrução dos vasos devido ao estreitamento, coágulo (trombose cerebral) ou ruptura do vaso (derrame cerebral).

Os quadros clínicos descritos acima podem ser amenizados com o tratamento adequado da hipertensão arterial.

Fatores de risco cardiovascular independentes são provocados pelos componentes desta síndrome. Os índices de morbidade e mortalidade não eram reduzidos com as propostas terapêuticas antigas, mesmo sendo elas eficazes no abaixamento significativo dos níveis pressão arterial. Tratamentos modernos necessitam prever o impacto causado em todos os fatores da síndrome, isto é, não devem se resumir apenas à redução dos níveis de pressão arterial.

Constatou-se que nos Estados Unidos a incidência de *Hipertensão Arterial* é diretamente proporcional ao aumento da idade dos indivíduos, de ambos os sexos, da população. A maior incidência da *Hipertensão Arterial* é na população de indivíduos da raça negra em qualquer idade. A incidência da *HA* nos Estados Unidos considera faixas distintas de idade como apresentado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Incidência de *HA* na população Norte americana [7]

<b>Faixas de idade da população Norte Americana</b>	<b>Incidência de <i>HA</i> / %</b>
até 40 anos	10
de 41 a 60 anos	20
de 61 a 70 anos	40
acima de 70 anos	60

No Brasil, as estatísticas oficiais são difusas. Elas indicam que há uma prevalência média de 15% da população adulta. Dependendo da região essa prevalência varia de 9 a 30% sendo os pobres os mais atingidos pela *Hipertensão Arterial* e acidentes cardiovasculares [8].

As estatísticas são influenciadas pela migração, diferentes origens raciais e, também, pelos hábitos sociais e profissionais. A população urbana é mais sensível à *Hipertensão Arterial* que população rural. Em 1995 foram atribuídas à *Hipertensão Arterial* 45% dos óbitos ocorridos no Brasil [8].

O desenvolvimento da *Hipertensão Arterial* é dependente da inter-relação entre a predisposição genética e fatores ambientais. Todavia, o mecanismo desta interação não é exatamente conhecido. A *Hipertensão Arterial* é acompanhada por disfunção endotelial e alterações funcionais:

- do sistema nervoso simpático;
- renais;
- da angiotensina;
- de outros mecanismos humorais.

### *1.1.1. Classificação da Hipertensão Arterial*

A *Hipertensão Arterial* sistêmica é classificada pelo nível de pressão arterial (PA), associada a uma estratificação do risco [5]. A Tabela 2 apresenta a classificação da *Hipertensão Arterial* com relação à pressão arterial.

Dois aspectos são envolvidos na estratificação de risco:

1. Fatores de risco maiores: tabagismo, dislipidemia, *Diabetes mellitus*, idade acima de 60 anos, sexo masculino, mulheres pós-menopausa e histórico familiar;
2. Lesão de órgão-alvo: doenças cardíacas, hipertrofia do ventrículo esquerdo, angina, revascularização miocárdica, insuficiência cardíaca, nefropatia, doença arterial periférica e retinopatia diabética.

A estratificação de risco permite estabelecer três grupos de risco:

**A** – nenhum fator de risco

**B** – pelo menos um fator de risco

**C** – presença de lesão de órgão alvo ou de *Diabetes mellitus*.

**Tabela 2:** Classificação clínica quanto ao nível da pressão arterial (PA) [5]

Nível de PA / mmHg		Classificação
<i>Diastólica</i>	<i>Sistólica</i>	
< 120	< 80	Ideal
< 130	< 85	Normal
130 – 139	86 – 89	Normal alta
140 – 159	90 – 99	Hipertensão estágio 1
160 – 179	100 – 109	Hipertensão estágio 2
> 180	> 110	Hipertensão estágio 3

O tratamento da *Hipertensão Arterial* é indicado com base na associação entre o nível da pressão arterial e o enquadramento em cada um dos grupos de risco acima. A Tabela 3 indica as normas de tratamento da hipertensão arterial, segundo VI Relatório do Joint International Committee [9].

O tratamento não medicamentoso envolve mudança no estilo de vida referente a hábitos alimentares e comportamentais. Tais mudanças envolvem redução de peso, redução da ingestão de sódio, aumento da ingestão de potássio, dieta rica em frutas e vegetais, menos alimentos com alto teor de gordura, diminuição ou abolição do álcool e prática de atividade física [10].

O tratamento medicamentoso deve ser adotado, quando as medidas preventivas não são suficientes para o controle da PA, nos pacientes dos Grupos A e B, com hipertensão no estágio 1 e imediatamente após diagnóstico no Grupo C em qualquer grau de *Hipertensão Arterial* [9]. Recomenda-se que o tratamento não farmacológico seja mantido paralelamente.

**Tabela 3:** Indicação de tratamento de acordo com o grupo de risco e o nível de PA [9]

<b>Grupo de Risco</b>	<b>Classificação da PA</b>	<b>Tratamento adotado</b>
<i>Grupo A<sup>1</sup></i>	Normal – alta	Mudança de estilo de vida
	Estágio 1	Mudança de estilo de vida por até 12 meses
	Estágio 2 e 3	Tratamento medicamentoso
<i>Grupo B<sup>2</sup></i>	Normal	Mudança de estilo de vida
	Estágio 1	Mudança de estilo de vida por até 6 meses
<i>Grupo C<sup>3</sup></i>	Qualquer estágio	Tratamento medicamentoso

<sup>1</sup>A – nenhum fator de risco

<sup>2</sup>B – pelo menos um fator de risco

<sup>3</sup>C – presença de lesão de órgão alvo ou de *Diabetes mellitus*.

## *1.2. Considerações sobre a Alopecia Areata*

A *Alopecia Areata* é uma doença caracterizada pela queda rápida e repentina de cabelos do couro cabeludo e/ou de qualquer outro lugar do corpo (barba, púbis, sobrancelhas, axilas, etc) [11,12]. Esta doença atinge cerca 1,7% população mundial [12]. Até então, considerava-se que a *Alopecia Areata* era causada por processos infecciosos, entretanto, a *Alopecia Areata* foi descrita como um problema de auto-imunidade adquirido geneticamente e desencadeado por tensão emocional. A literatura descreve casos típicos de crianças, cujos pais se separaram, que desenvolveram casos muito graves da *Alopecia Areata* [11].

A hereditariedade é um fator crucial. Estima-se que 20% das pessoas que desenvolveram a *Alopécia Areata* tinham alguém na família com a doença. O indivíduo que desenvolve a doença com idade superior aos 30 anos, no entanto, reduz a probabilidade de seus descendentes apresentarem os sintomas.

A *Alopécia Areata* costuma se desenvolver em indivíduos que são descendentes de famílias cujos integrantes desenvolveram doenças auto-imunes como asma, artrite reumatóide, lupus e vitiligo. Essa patologia também é comum em indivíduos portadores de Síndrome de Down [13].

Na *Alopécia Areata* os folículos capilares são atacados por engano pelo próprio sistema imunológico do indivíduo, resultando na interrupção do crescimento dos fios de cabelo. Geralmente inicia-se com pequenas falhas no couro cabeludo que regridem espontaneamente em poucos meses. Em alguns casos há progressão da queda de cabelos não só no couro cabeludo, mas também por todo corpo [13].

A perda de cabelos não é o único sintoma da *Alopécia Areata*, também é comum ocorrer vários tipos de deformação nas unhas. Em alguns casos as unhas ficam estriadas como se tivessem sido arranhadas por um alfinete ou ainda apresentam pontos em baixo relevo como se fosse um dedal. Nenhuma outra parte do corpo é afetada pela doença a não ser em unhas e cabelos [12,13].

Nenhum tratamento mostrou-se completamente eficaz no combate da *Alopécia Areata*. Se a carga genética é forte no sentido de favorecer a queda precoce de cabelos as medicações devem ser usadas por longos períodos com

pequenos intervalos. Nesse caso de carga genética forte não há cura para a doença, mas sim o retardo de sua manifestação. No entanto, se a carga genética for suave no sentido de queda precoce de cabelos, as doses aplicadas são menores com intervalos mais longas. Entretanto, a aplicação de alguns fármacos pode causar casos de alergia graves [14].

O tratamento mais conhecido é a aplicação de solução tópica de minoxidil, um vasodilatador de uso local com ação sobre os receptores androgênicos do pêlo, ou seja, que ajuda a bloquear os derivados da testosterona. Se a queda for acentuada, pode-se prescrever a versão mais concentrada, já que existem dois tipos de preparação: um mais concentrado e outro mais diluído [11]. É preciso tomar cuidado porque nem tudo o que apresenta bons resultados para os homens pode ser indicado para as mulheres, uma vez que nelas os efeitos colaterais podem ser desagradáveis. Depois de aplicar o remédio no couro cabeludo, algumas mulheres desenvolveram barba na face e pêlos nos braços, pernas, etc [13].

### *1.3. Análise Titrimétrica [15]*

A análise titrimétrica, ou titulação volumétrica consiste na determinação exata do volume, de uma solução padrão, necessário para reagir quantitativamente com uma solução cuja concentração será determinada.

Geralmente, a solução padrão (chamada titulante) é adicionada por uma bureta à solução em análise (chamada titulado), solução cuja concentração

será determinada, até que se atinja o ponto final da titulação que deve ser o mais próximo possível ao ponto de equivalência (volume teórico gasto de titulante).

Análise volumétrica consiste, essencialmente, em determinar o volume (com exatidão) o volume de uma solução de concentração exatamente conhecida para reagir quantitativamente com a solução da substância sob determinação.

Para que a análise volumétrica seja eficaz algumas características são cruciais:

- 1 – Reação praticamente completa quando presentes quantidades equivalentes das substâncias que dela participam;
- 2 – A reação de ser instantânea, em certos casos, não sendo suficientemente rápida, a velocidade de reação pode ser acelerada pelo aumento de temperatura ou pela adição de catalisador;
- 3 – A reação deve processar-se de uma maneira única e bem definida, é preciso que não ocorram reações secundárias.

Ressalva: Embora, certas reações, não se processem de maneira bem definida, entretanto, são usadas como base de métodos volumétricos, desde que as condições dos processos sejam perfeitamente controladas;

- 4 – O ponto final deve ser facilmente observável por alguma modificação das propriedades físicas ou químicas da solução que é objeto da titulação [15].

- 5 – Ausência de reações secundárias.

A análise titrimétrica é uma técnica muito utilizada para a determinação quantitativa de diversas substâncias, mesmo sendo ela uma técnica



clássica de determinação. A AOAC (“Association of Official Analytical Chemists”) é uma organização internacional reconhecida pelos seus 120 anos de experiência em validar e aprovar métodos para análise de alimentos, medicamentos e produtos agrícolas. A AOAC detém uma coleção exclusiva de análises químicas e tomando como exemplo o conteúdo da 16<sup>a</sup> Edição dos Métodos Oficiais de Análises da AOAC, são descritos 2036 métodos de análise [16]. No entanto, foram identificados 336 procedimentos de quantificação de analito como métodos titrimétricos, ou seja, 17% dos métodos descritos na 16<sup>a</sup> Edição dos Métodos Oficiais de Análises da AOAC [16, 17].

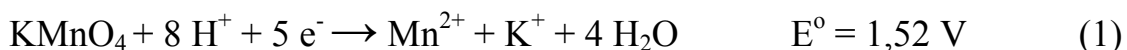
### *1.3.1. Titrimetria de Oxirredução [15]*

A titrimetria de oxirredução é marcada pela alteração dos números de oxidação das substâncias envolvidas na reação, provocando transferência de elétrons. Essa variação dos números de oxidação pode ser acompanhada por um indicador visual, potenciométricamente, espectrofotometricamente, etc. [15].

### *1.3.2. Titrimetria com $KMnO_4$ [18]*

O permanganato de potássio ( $KMnO_4$ ) foi utilizado pela primeira vez por F. Margueritte na determinação de Fe(II) em soluções ácidas. O potencial padrão de redução do  $MnO_4^-$  em meio ácido é de 1,52 volts o que indica que o permanganato de potássio é um oxidante forte (Equação 1). O meio é acidificado com ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ), pois esse ácido não se oxida

frente ao  $\text{KMnO}_4$ , como ocorre com o ácido clorídrico ( $\text{HCl}$ ), que se oxida formando  $\text{Cl}_2$  reagindo paralelamente [18].

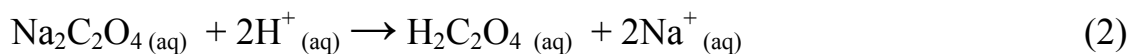


Em meio ácido o permanganato de potássio, que se apresenta na forma de uma solução de coloração violeta, se reduz a Mn (II), o que é indicado por uma solução incolor [19,20].

O permanganato de potássio tem como desvantagens não ser padrão primário devido à instabilidade à incidência de luz e a instabilidade térmica o permanganato de potássio deve ser padronizado com o auxílio de um padrão primário. Um padrão primário usado na padronização do permanganato de potássio é o oxalato de sódio ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ) em meio ácido. Entretanto, mesmo apresentado tais desvantagens, o permanganato de potássio apresenta como vantagens um alto poder oxidante e, ainda, quando usado em titulações em que a substância a ser titulada é incolor ou levemente colorida, o  $\text{KMnO}_4$  além de oxidante é auto indicador, portanto sendo desnecessária a adição de indicador. O ponto final da titulação é marcado por um pequeno excesso da solução titulante ( $\text{KMnO}_{4(\text{aq})}$ ), 0,01 mL de uma solução de  $\text{KMnO}_4$  a  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  é suficiente para que o sistema desenvolva uma cor rosa pálido em um volume de 100 mL de água [18].

Uma vez que o permanganato de potássio não é padrão primário, suas soluções devem ser padronizadas com oxalato de sódio ( $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ )

dissolvido em solução ácido sulfúrico, o qual reage com o ácido formando ácido oxálico ( $\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$ ) conforme a Equação 2.

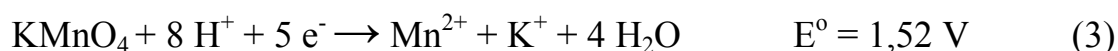


Adiciona-se de 90 a 95 % do volume do ponto de equivalência calculado do permanganato de potássio (titulante) ao ácido oxálico (titulado) à aproximadamente  $60^\circ\text{C}$  (Equação 3), tendo como ponto final da titulação uma coloração rosa pálido devido ao pequeno excesso de  $\text{KMnO}_4$  como visto acima [18].

### 1.3.3. Titrimetria com $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ [21]

O dicromato de potássio é um sal com poder oxidante menor que o apresentado pelo permanganato de potássio, isso fica evidenciado quando comparados os potenciais de redução de ambos os sais (Equação. 3 e Equação.

4)



Entretanto, o  $K_2Cr_2O_7$  apresenta algumas vantagens sobre o  $KMnO_4$ , tais como:

- Pode ser obtido com alto teor de pureza;
- Estabilidade térmica até atingir seu ponto de fusão;
- Quando seco e atendendo as condições exigidas, pode ser usado como padrão primário;
- Soluções aquosas são estáveis indefinidamente desde que protegidas da evaporação;
- Soluções padrão de concentração exatamente conhecida podem ser preparadas a partir da dissolução do sal pesado;
- Estáveis à ação da luz;
- Não é reduzido por ácido clorídrico (HCl);
- Reage menos com matéria orgânica;
- É reduzido, em temperatura ordinária, de Cr(VI), cor laranja, a Cr(III), cor verde [21].

### *1.3.5. Análise titrimétrica com detecção espectrofométrica [22]*

A análise titrimétrica com detecção espectrofométrica é utilizada em casos cujos produtos ou reagentes apresentam diferentes comprimentos de onda de máximo de absorção. Portanto, no ponto de equivalência, a radiação absorvida pelos produtos é diferente da radiação absorvida pelos reagentes.

Todas as reações que apresentam mudança de cor no ponto de equivalência podem ser monitoradas por essa técnica, inclusive as reações marcadas pelo decréscimo de absorbância, nas quais o ponto de equivalência apresenta zero de absorbância [22].

Quando a radiação eletromagnética incide em uma molécula, os elétrons no estado eletrônico fundamental podem ser excitados para um estado de maior energia. Se a frequência da radiação é  $\nu$ , ela pode levar a molécula a um estado excitado que difere, em energia, do estado fundamental de um valor  $\Delta\varepsilon$  (Equação 5):

$$\Delta\varepsilon = h\nu \quad (5)$$

Esta é a condição de frequência de Bohr, sendo  $h$  a constante de Planck.

Cada fóton tem energia suficiente para excitar os elétrons presentes em uma molécula, levando a diferentes distribuições. Supondo a existência de um orbital vazio à distância exata, a radiação incidente poderia excitar o elétron até esse orbital, e então ser absorvida. Assim, o estudo da absorção no visível e no ultravioleta fornece informações sobre os níveis eletrônicos de energia das moléculas.

Espectros de absorção na região do ultravioleta (UV) e visível podem ajudar na avaliação quantitativa da absorção e permitem uma análise precisa da capacidade de uma molécula em absorver energia.

Quando um feixe de radiação eletromagnética incide em uma solução contendo uma espécie capaz de absorver certos comprimentos de onda, parte da radiação incidente ( $P_0$ ), é absorvida pela espécie e emerge após atravessar uma certa espessura de solução ( $b$ ), como um feixe de radiação com intensidade  $P$ .

Pode-se definir a fração de luz que passou pela solução em relação à radiação incidente, como sendo a *transmitância* ( $T$ ), dada por (Equação 6):

$$T = P / P_0 \quad (6)$$

Pode-se também definir a absorbância ( $A$ ) de uma solução como sendo (Equação 7):

$$A = -\log T = -\log P / P_0 \quad (7)$$

A absorbância é diretamente proporcional à concentração da espécie absorvente segundo a Lei de Lambert-Beer (Equação 8):

$$A = a b C \quad (8)$$

Na qual  $a$  é uma constante chamada de coeficiente de absortividade,  $b$  é a distância percorrida pelo feixe de radiação no interior da amostra (o caminho ótico),  $C$  é a concentração da espécie absorvente. Quando a concentração é expressa em  $\text{mol L}^{-1}$ ,  $a$  passa a ser a *absortividade molar*,  $\epsilon$ . Neste caso a Equação 9 se torna [23 – 26]:

$$A = \epsilon b C \quad (9)$$

A absorbância deve ser corrigida a cada adição do titulante, pois segundo a Lei de Lambert-Beer, ela é proporcional à concentração das espécies

presentes e a adição do titulante provoca diluição do titulado e do titulante. A correção é feita pela Equação 10 [29 - 30].

$$A_{corr} = A_{lida} \times \left( \frac{V + v}{V} \right) \quad (10)$$

Na qual,  $A_{corr}$  é a absorvância corrigida,  $A_{lida}$  é a absorvância obtida em cada ponto,  $V$  o volume inicial do titulado e  $v$  é o volume de titulante a cada ponto.

Os resultados fotométricos podem ser utilizados na detecção do ponto finais de titulações, desde que haja variação na estrutura das espécies envolvidas ou de um indicador, que lhes permita absorver radiação de diferentes comprimentos de onda, antes e depois do ponto final [23 – 25].

No caso de titulações ácido-base, adiciona-se o titulante ao titulado e mede-se a absorvância do sistema em função do volume adicionado em um comprimento de onda preestabelecido.

O comprimento de onda deve ser aquele em que ocorre o máximo de absorção do titulado ou do titulante caso sejam coloridos ou de um indicador cuja cor mude neste ponto [14,15], para que se tenha a máxima sensibilidade.

Pode haver surgimento ou desaparecimento da cor após o ponto de equivalência, ou ainda, mudança da cor que implique em absorção em comprimento de onda diferente daquele monitorado. A absorção de radiação também pode ocorrer na região do ultravioleta.

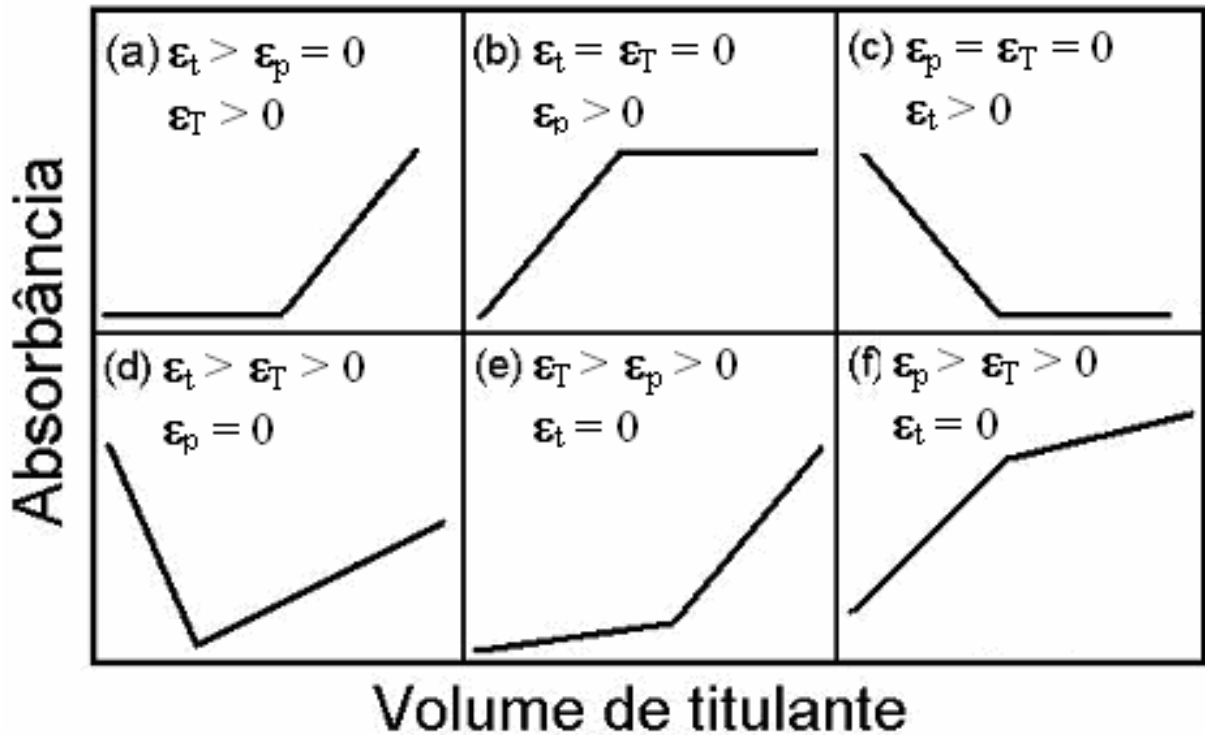
Assim, o resultado de uma titulação fotométrica é um gráfico que representa a variação da absorvância, no comprimento de onda do máximo de

absorção da espécie que está sendo monitorada, em função do volume do titulante adicionado.

Este gráfico pode apresentar formas diferentes, dependendo das características da absorção de radiação pelas espécies envolvidas, no comprimento de onda monitorado. A Figura 2 mostra tais possibilidades como a reação de titulante que não absorve, com titulado colorido, gerando produto incolor (Fig. 2.c); formação de produto colorido a partir de reagentes que não absorvem neste comprimento de onda (Fig. 2.b), além de várias outras possibilidades. Nesta Figura  $\epsilon$  representa a absorvidade da espécie, enquanto  $t$ , P e T representam respectivamente o titulado, o produto da reação e o titulante. (Figura 2).

O ponto final na análise titrimétrica com detecção espectrofométrica tem vantagem sobre as outras análises titrimétricas, pois entendendo que para valores de constantes baixas, situações para a qual a determinação do ponto final implica em uma maior incerteza, o emprego do método gráfico (titulação espectrofométrica) conduz à resultados com menor incerteza [29].





**Figura 2:** Diferentes perfis que podem ser observados em gráficos de absorbância em função do volume de titulante, resultantes de titulações fotométricas [29].

### 1.3.6. Análise Titrimétrica com detecção Potenciométrica

A análise titrimétrica com detecção potenciométrica tem por característica a medida direta da diferença de potencial de um eletrodo no propósito de encontrar o ponto final da titulação [31].

Nesse tipo de análise é medida a força eletromotriz entre dois eletrodos, o eletrodo indicador e o de referência de potencial.

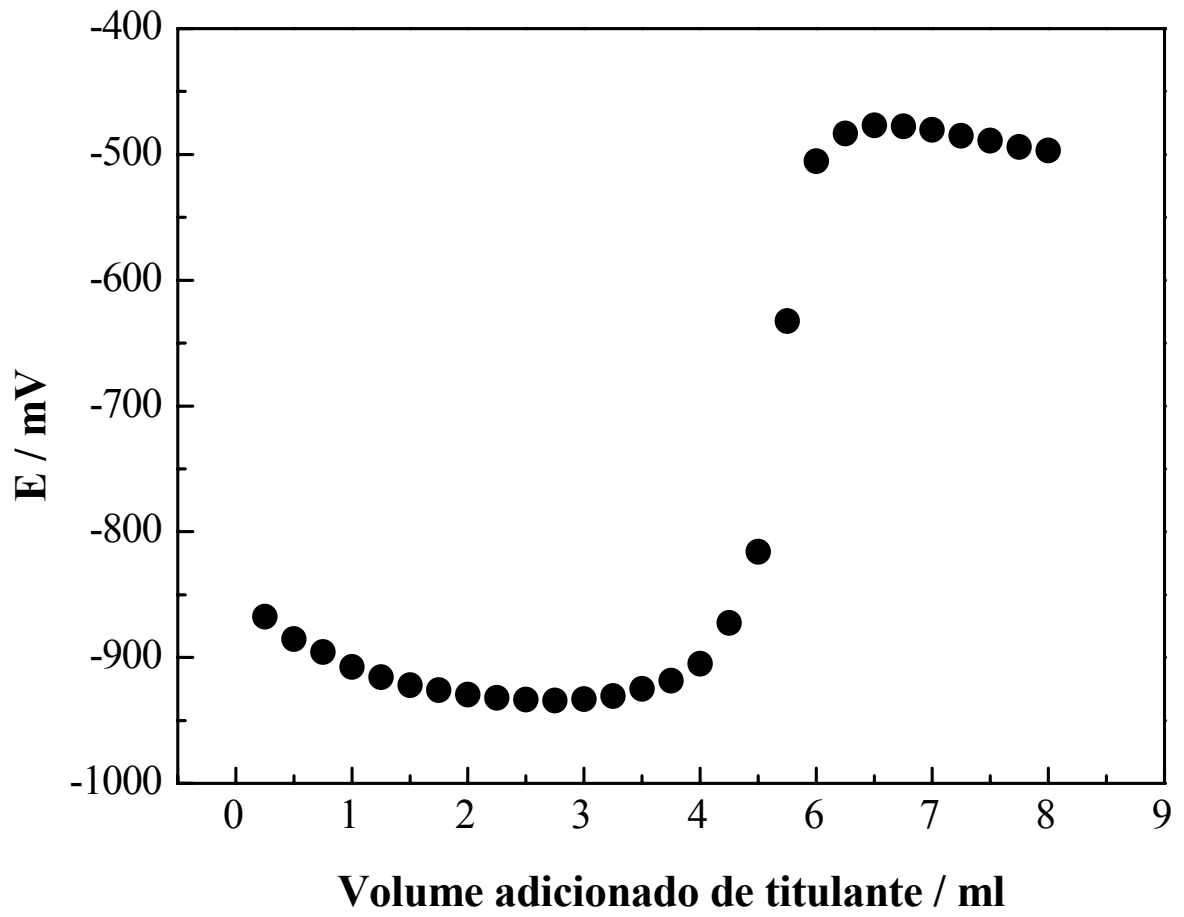
O eletrodo de referência de potencial apresenta um potencial constante, porém para a titrimetria potenciométrica não é necessário conhecer o valor do potencial do eletrodo. O eletrodo indicador tem o seu potencial variado

em função do íon ou molécula a serem determinados, esse eletrodo deve responder rapidamente a mudanças de potencial [32].

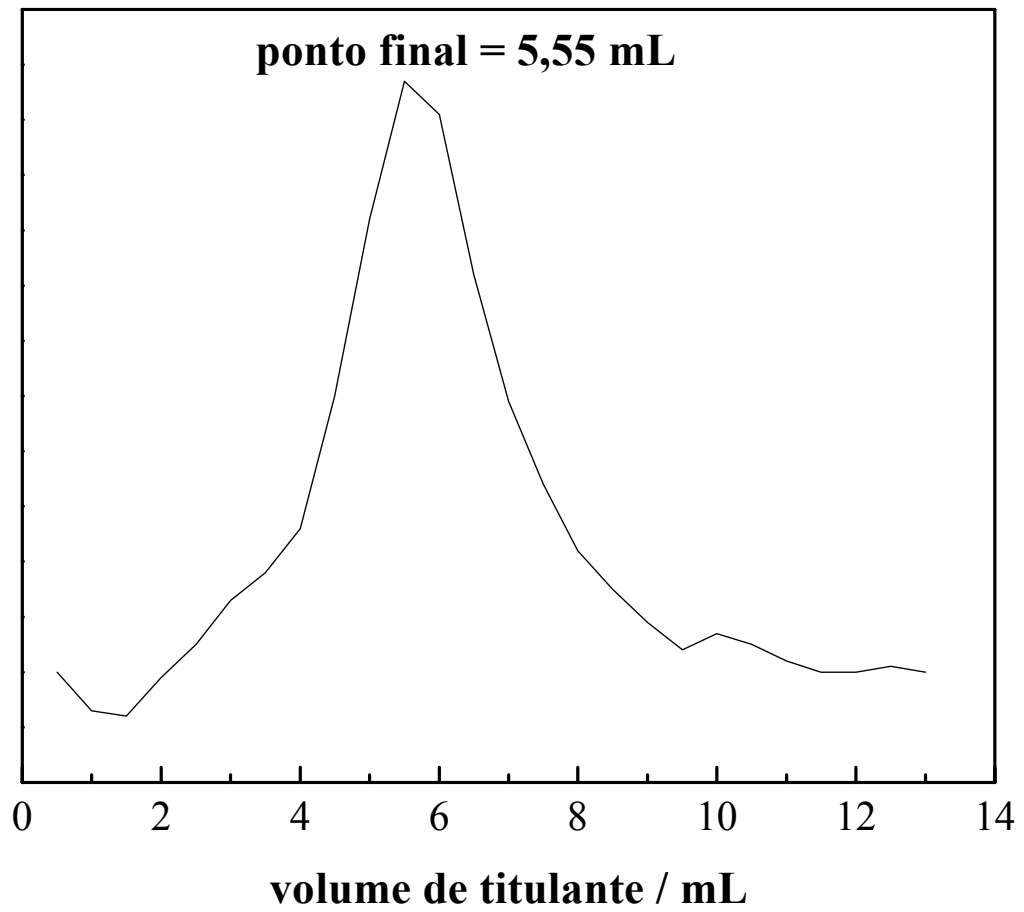
Os valores de potencial obtidos na titrimetria potenciométrica não são absolutos em relação à pilha padrão, mas sim são valores comparativos, obtidos no decorrer da análise, entre o potencial inicial e potencial final [32].

O ponto final é indicado graficamente quando se traça a curva do potencial em função do volume adicionado de titulante sendo evidenciado pela súbita mudança de potencial (Figura 3) [32].

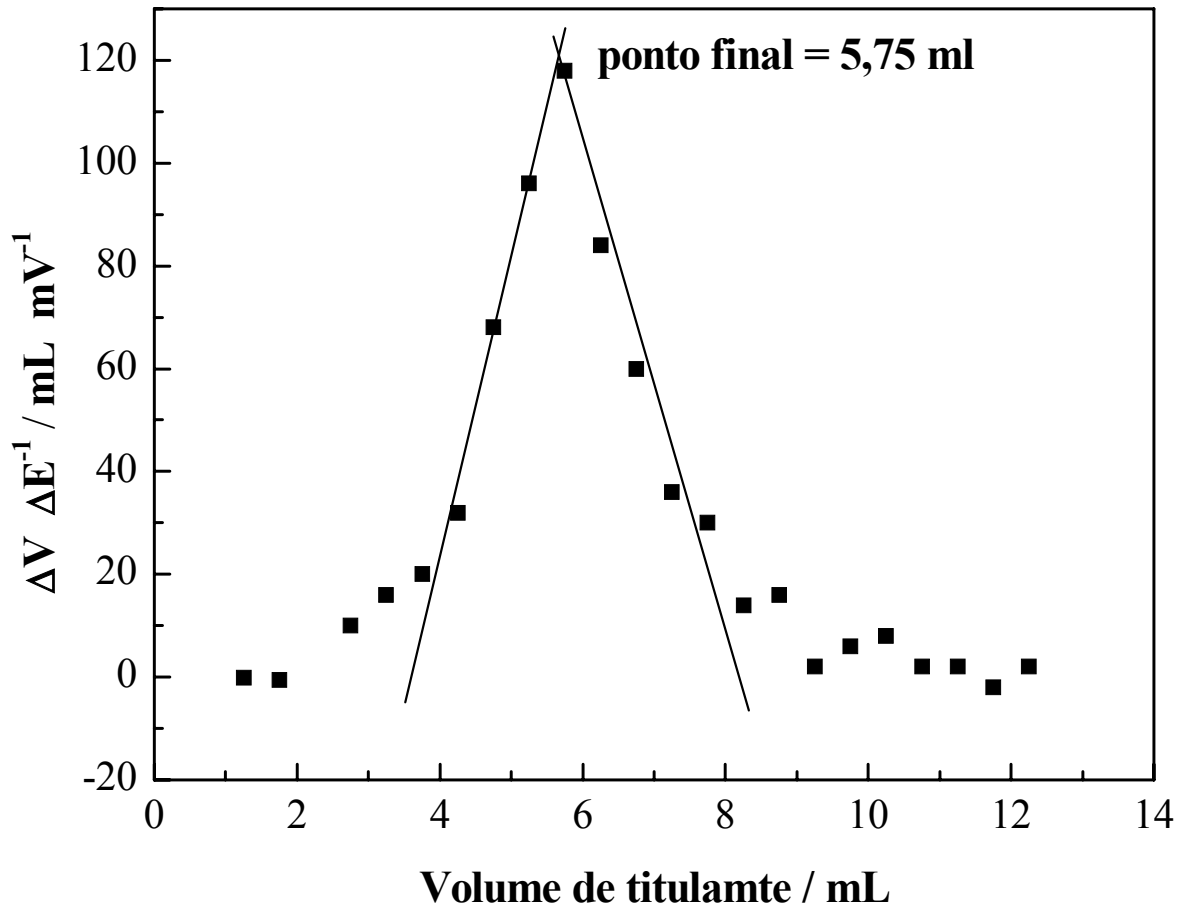
O ponto final pode ser calculado utilizando-se a primeira derivada (Figura 4) da curva do potencial em função do volume ou usando método de Gran [33] que consiste na análise matemática dos pontos da curva potencial vs volume e os valores encontrados são lançados num gráfico de  $\Delta V \Delta E^{-1}$  em função do volume de titulante (Figura 5). O ponto de equivalência para essa titulação era de 5,96 mL a técnica da primeira derivada indicou um volume no ponto final de 5,55 mL apresentando um desvio de -6,72 % , já o método de Gran indicou como ponto final 5,75 mL com desvio de -3,52 % mostrando que o último método é mais exato, na indicação do ponto final.



**Figura 3:** Curva típica da análise titrimétrica com detecção potenciométrica.



**Figura 4:** Primeira derivada da curva potencial vs volume de titulante.



**Figura 5:** Curva do método de Gran [33].

#### *1.4. Análise por Injeção em Fluxo (FIA)*

O conceito da análise por injeção em fluxo (FIA) desenvolvida originalmente por Ruzicka e por Hansen [34] envolve a injeção de um volume de amostra em uma linha de solução transportadora com fluxo contínuo. A amostra se dispersa no reagente carregador, formando um produto, que é monitorado continuamente. Do desenvolvimento do conceito original, muitas variações neste método básico foram desenvolvidos [35].

Basicamente o sistema de FIA é composto por um dispositivo de propulsão, um injetor / comutador e um detector. O dispositivo da propulsão

deve permitir um fluxo laminar e contínuo, sem pulsação. Geralmente é utilizada uma bomba peristáltica, porém a força da gravidade também é uma forma de propulsão. O injetor / comutador é usado para introduzir rápida e precisamente quantidades apropriadas de amostras na linha do reagente carregador. Finalmente, o detector monitora o sinal analítico gerado pelo(s) produto(s) da reação ou pelo próprio analito. Dependendo da natureza do sinal do analito o monitoramento pode ser espectrofotométrico, potenciométrico ou amperométrico. Tubos conectam todas as partes do sistema FIA e transportam os reagentes ao longo do percurso analítico. Percurso analítico é a distância percorrida pela amostra entre o injetor / comutador e o detector. Portanto, diversos arranjos podem ser usados a fim de se alcançar o melhor desempenho analítico nos termos de sensibilidade, estequiometria da reação, etc.

Entre os mais variados arranjos descritos para a análise em fluxo, o arranjo de "linha única" é o mais simples para sistemas FIA. O arranjo de "linha única" consiste na injeção da amostra na linha da solução transportadora (reagente carregador), gerando um sinal transiente sendo detectado por um detector. [34 – 37].

## 2.OBJETIVOS

Este trabalho tem por objetivo principal desenvolver estratégias para determinação de minoxidil em formulações farmacêuticas.

Para tanto deverão ser desenvolvidas:

- Titulações visuais usando permanganato de potássio como titulado e auto-indicador;
- Titulações espectrofotométricas baseadas na reação de descoloramento do permanganato de potássio em presença de minoxidil:
- Procedimento por análise por injeção de fluxo (FIA) com detecção espectrofotométrica, baseada na reação acima;
- Titulações potenciométricas usando dicromato de potássio como titulado e eletrodos de platina como indicador e calomelano saturado como referência.

### 3. MINOXIDIL PADRÃO E AMOSTRAS COMERCIAIS

O minoxidil utilizado como padrão foi adquirido junto à *Natural Pharma Produtos Farmacêuticos Ltda.*, com nota fiscal nº 142065 e lote nº 1901. Segundo o laudo de análise emitido pela *Natural Pharma*, o minoxidil foi dosado de duas formas:

Dosagem por HPLC – 99,5 % de pureza e

Dosagem com  $\text{HClO}_4$  – 99,00 % de pureza.

As amostras comerciais analisadas foram o *Regaine*<sup>®</sup> fabricado nos Estados Unidos da América pelo laboratório Pharmacia e o *Neoxidil*<sup>®</sup>, fabricado no Brasil pelo laboratório Galderma. As amostras comerciais são soluções de uso tópico contendo 2% de minoxidil m / v ( $20 \text{ mg mL}^{-1}$ ) numa mistura de etanol e propileno glicol como veículo [39,40]. As amostras comerciais, analisadas nesse trabalho, são usadas no tratamento da *Alopécia Areata*. Devido ao crescimento de pêlos por todo o corpo, o medicamento, o qual contém como princípio ativo o minoxidil, é pouco usado no Brasil no tratamento da *Hipertensão Arterial*, de forma que são pouco acessíveis os anti-hipertensivos a base de minoxidil.



## 4. TESTES QUALITATIVOS

### 4.1. Oxidação do minoxidil

Inicialmente foram realizados testes qualitativos com, diversas substâncias com caráter redox que poderiam reagir com o minoxidil.

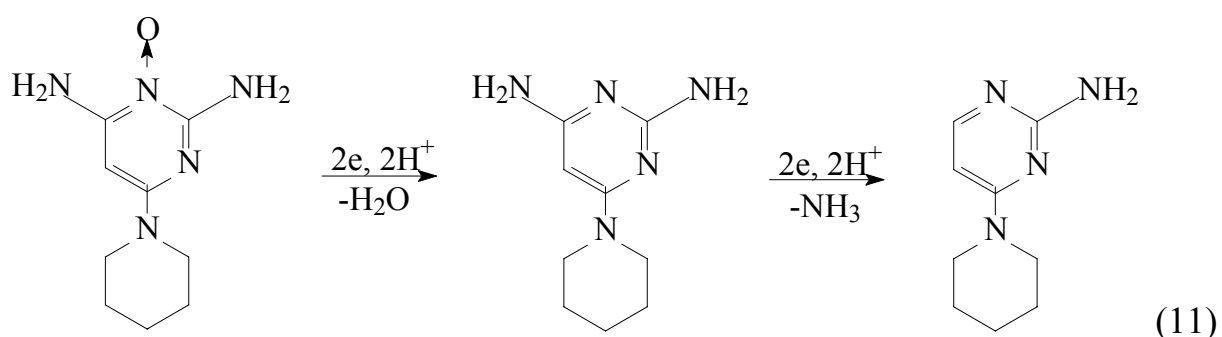
Em concordância com o *Merck Index* [1], testes preliminares mostraram que o analito em água é completamente insolúvel, em etanol é medianamente solúvel e em meio ácido é completamente solúvel. Obviamente foi selecionado o meio ácido para proceder à dissolução do minoxidil. Entretanto, não eram todos os ácidos que podiam ser utilizados, pois alguns reagem com o minoxidil, como o ácido perclórico usado pelo fornecedor *Natural Pharma* para fornecer o laudo técnico sobre o composto comercializado, ou reage com os oxidantes usados neste trabalho [17]. Optou-se, então, pelo uso do ácido sulfúrico, pois esse ácido não reage com o minoxidil e nem com o permanganato de potássio e nem com o dicromato de potássio [17].

Quando a solução de minoxidil, em meio de ácido sulfúrico foi colocada na presença da solução aquosa de dicromato de potássio notou-se que havia uma mudança na coloração inicial alaranjada característica do Cr(VI), para verde, característica do Cr(III). No teste com o permanganato de potássio observou-se a descoloração da solução de permanganato de potássio, que

inicialmente era roxa característico de Mn(VII), para incolor indicando a redução a Mn (II).

#### 4.2. Redução do minoxidil

Amankwa *et al.* [41] descrevem a redução eletroquímica do minoxidil. A reação ocorre em meio ácido segundo a Equação 11, proposta pelos autores.



Foi usado o Fe (II) como reagente redutor, porém não apresentou reação observável com o minoxidil, não sendo esta via usada no desenvolvimento dos trabalhos, optando-se pela oxidação com permanganato de potássio e dicromato de potássio.

## 5. MÉTODO COMPARATIVO [42]

Foi usado um método comparativo para determinação da concentração minoxidil presente nas amostras comerciais. O método usado foi o descrito por Zarghi *et al.* [42], o qual consiste de um procedimento de cromatografia líquida de alta performance (HPLC). Para este procedimento foram usadas as seguintes condições experimentais:

- Comprimento de onda = 254 nm;
- Fase móvel metanol / água (80 : 20); Fluxo = 1,3 mL min<sup>-1</sup>;
- Coluna Supelco C-18 (150 x 3,9 mm, 4 mm);
- Sistema cromatográfico HPLC LC-6AD Shimadzu;
- Detector espectrofotométrico SPD-10A VP Shimadzu. Com o método comparativo descrito, analisaram-se os dois lotes (A e B) das amostras comerciais (*Neoxidil*<sup>®</sup> e *Regaine*<sup>®</sup>) na intenção de investigar a real concentração do analito. Os resultados das análises são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4:** Valores obtidos pelo método comparativo e valores dos rótulos das amostras comerciais, dados em mg mL<sup>-1</sup>

Amostra	Rótulo	Lote A*	Lote B*
<i>Neoxidil</i> <sup>®</sup>	20,0	19,4 ± 0,41	20,8 ± 0,41
<i>Regaine</i> <sup>®</sup>	20,0	20,9 ± 0,47	20,9 ± 0,54

\* n = 3

## **6. DETERMINAÇÃO TITRIMÉTRICA DE MINOXIDIL EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS USANDO PERMANGANATO DE POTÁSSIO**

### *6.1 Introdução*

Nos estudos descritos anteriormente, observou-se o descoloramento da solução de permanganato de potássio na presença de minoxidil em meio ácido. A partir dessa observação desenvolveu-se um procedimento titrimétrico para quantificar minoxidil em amostras comerciais usando permanganato de potássio como reagente.

A otimização consistiu na investigação do efeito das concentrações de minoxidil, ácido sulfúrico e permanganato de potássio, além da temperatura de reação. Foi também analisada a ordem de adição de reagentes, titulador e titulante. A exatidão do procedimento foi avaliada pelos testes de repetitividade e de adição e recuperação.

Sendo o permanganato de potássio instável à luz e ao calor e por não ser padrão primário, as soluções de trabalho foram padronizadas antes de cada determinação de minoxidil [18].

## 6.2. Experimental

### 6.2.1. Reagentes e equipamentos

Todos os reagentes utilizados no presente trabalho foram grau analítico, PA. As soluções foram preparadas em água bidestilada num destilador de quartzo. As soluções de permanganato de potássio (Merck) foram preparadas pela dissolução direta em água bidestilada do sal com posterior aquecimento e filtragem como descrito na literatura [18]. As soluções de permanganato de potássio foram padronizadas com oxalato de sódio (Merck, USA) dissolvido em ácido sulfúrico (Mallinckrodt, México)  $2,00 \text{ mol L}^{-1}$  [18]. O minoxidil padrão foi fornecido pela *Natural Pharma Produtos Farmacêuticos Ltda*, lote nº 1901, como descrito anteriormente.

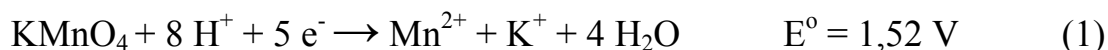
Os materiais utilizados análise titrimétrica foram:

- Bureta de 10,00 mL de capacidade previamente calibrada, com subdivisões de 0,05 mL e erro de  $\pm 0,025 \text{ mL}$ ;
- Becker de 40 mL de capacidade;
- Chapa de aquecimento com agitação magnética;
- Barra magnética;
- Termômetro.

### 6.2.2. Procedimento

Segundo a literatura o permanganato de potássio reduz-se em meio ácido formando Mn(II) que é incolor consumindo  $8 \text{ H}^+$  e 5 elétrons, essa reação

apresenta potencial de redução positivo de +1,52 volts (Equação 1) em relação ao eletrodo normal de hidrogênio.



Uma vez que o permanganato não é padrão primário, recomenda-se a padronização de suas soluções com oxalato de sódio em meio ácido, nesta condição o sal do ácido fraco é protonado formando o ácido oxálico. A padronização se procede com a adição de 90 a 95 % do volume do ponto de equivalência calculado previamente da solução permanganato de potássio (titulante) ao ácido oxálico (titulado) à aproximadamente 60 °C, tendo como ponto final da titulação uma coloração rosa pálido devido ao pequeno excesso de  $\text{KMnO}_4$  como visto anteriormente [18]. A padronização do permanganato de potássio segue parâmetros descritos na literatura que são:

- $[\text{KMnO}_4] \approx 2,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- $[\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4] \approx 1,0 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- Agitação vigorosa;
- Temperatura de aproximadamente 60 °C.

### *6.3. Resultados e discussão*

#### *6.3.1. Estudo do efeito da ordem da adição de amostra*

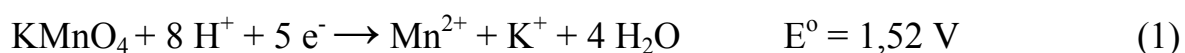
Investigou-se o efeito da ordem de adição de reagentes, isto é, definiu-se o titulado e o titulante. Na padronização do permanganato de potássio

este é usado como titulante e auto-indicador, porém na determinação titrimétrica de minoxidil o permanganato, quando usado como titulante auto-indicador impossibilitava a visualização do ponto final da titulação, pois, com um pequeno excesso do permanganato de potássio, a cor rosa pálido, que indicaria o ponto final da titulação, não era observada [18].

Após a adição de excesso de permanganato de potássio ocorria o aparecimento de um precipitado marrom típico de óxido de manganês IV ( $\text{MnO}_2$ ), todavia ao inverter a ordem de adição, ou seja, o minoxidil como titulante e o permanganato como titulado, o ponto final da titulação era visualizado no momento da descoloração total da solução de permanganato de potássio. Portanto optou-se pela utilização do minoxidil como titulante e do permanganato de potássio como titulado.

### *6.3.2. Estudo da influência da concentração de ácido sulfúrico*

Variou-se a concentração de ácido sulfúrico com propósito de desenvolver um sistema com pH não tão agressivo, porém a redução do permanganato de potássio em meio ácido requer 8 mols do íon  $\text{H}^+$  para cada mol de permanganato de potássio de acordo com a semi-reação apresentada na Equação 1.



Esse consumo de ácido faz com que o sistema requeira uma solução concentrada de ácido sulfúrico impondo ao sistema pH extremamente ácidos.

Baixas concentrações de ácido sulfúrico há a formação da espécie  $\text{MnO}_2$ , surgindo um precipitado marrom [18].

Dessa forma, variou-se a concentração de ácido sulfúrico entre 0,100 a 4,00 mol L<sup>-1</sup> na reação redox entre o minoxidil e permanganato de potássio. Percebeu-se que em valores de concentração menores que 2,00 mol L<sup>-1</sup> de ácido sulfúrico formava-se preferencialmente  $\text{MnO}_2$  ao invés de  $\text{Mn}^{2+}$ , entretanto para valores de concentração de ácido sulfúrico formava-se apenas  $\text{Mn}^{2+}$ . A partir destes experimentos selecionou-se a menor concentração de ácido sulfúrico para a qual favorecesse apenas a formação de  $\text{Mn}^{2+}$ . Portanto a concentração mínima foi de 2,00 mol L<sup>-1</sup> de ácido sulfúrico para a da reação redox entre o minoxidil e permanganato de potássio.

### *6.3.3. Estudo da influência das concentrações de minoxidil e de permanganato de potássio*

As concentrações de minoxidil e de permanganato de potássio foram variadas no sentido de se obterem análises em amostras mais diluídas, porém concentrações significativamente diferentes de  $1,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de minoxidil e  $2,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup> de permanganato de potássio, mais concentradas ou mais diluídas, provocaram a formação de  $\text{MnO}_2$ . Portanto, as concentrações selecionadas foram as acima citadas para o minoxidil e o permanganato de potássio. Essas concentrações coincidem com aquelas recomendadas para a



padronização do permanganato de potássio, com o oxalato de sódio em meio ácido.

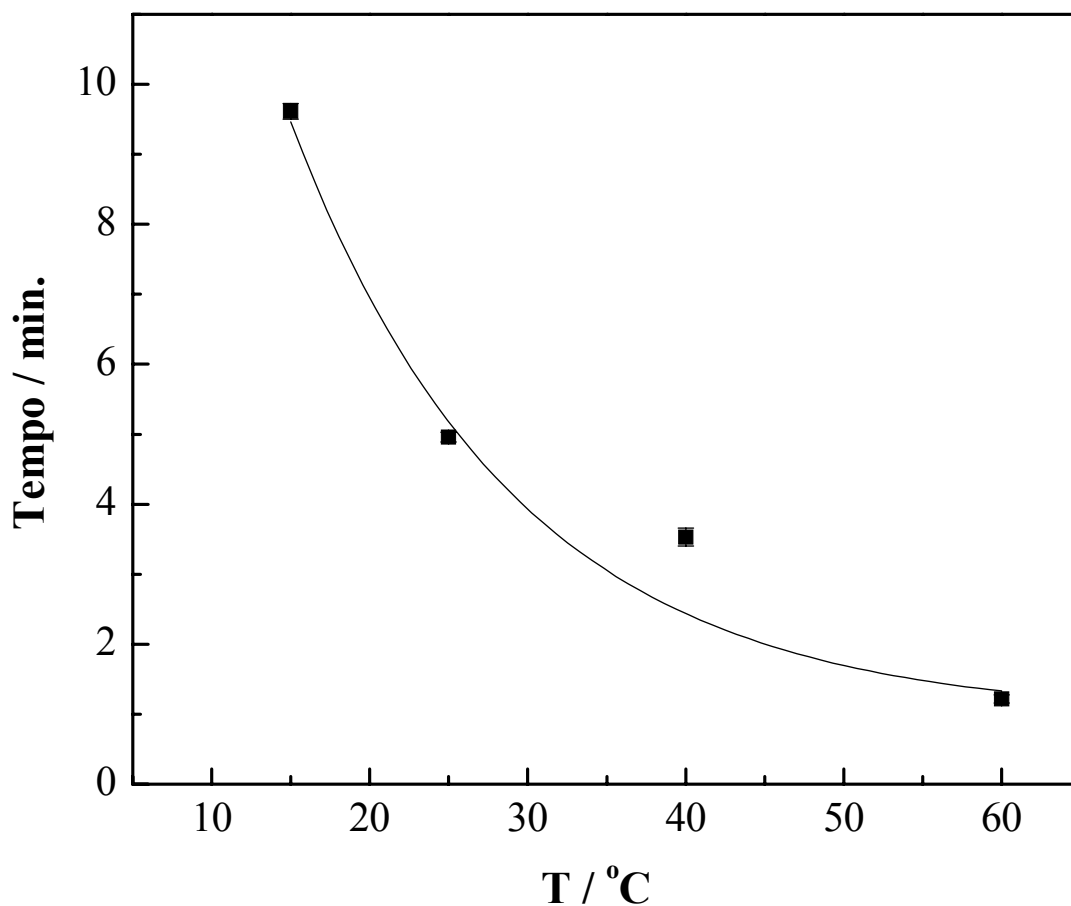
#### *6.3.4. Estudo da influência da temperatura*

Por questões relacionadas à cinética de redução do  $\text{MnO}_4^-$ , recomenda-se o uso de temperaturas maiores que a ambiente nas reações com este íon. Além disso, a presença do íon  $\text{Mn}^{2+}$  catalisa as reações. Para que haja a formação do  $\text{Mn}^{2+}$  é necessário a adição de 90 % do volume sugerido para o ponto de equivalência [18], titulando-se o restante da amostra lentamente até a final da titulação.

Neste experimento avaliou-se o tempo decorrido para o consumo do  $\text{KMnO}_4$  pela adição dos 90 % do volume do ponto de equivalência para a solução de minoxidil recomendado para o início da titulação. Os resultados são apresentados na Figura 6.

Observou-se que, em temperaturas maiores do que  $60^\circ\text{C}$  houve a formação de  $\text{MnO}_2$  e, portanto, a temperatura limite para que não haja a formação do óxido de manganês foi de  $60^\circ\text{C}$ , pois esta é a temperatura crítica para a decomposição do permanganato de potássio. Entretanto, titulações procedidas com as mesmas soluções de titulado e titulante e em temperaturas menores que  $60^\circ\text{C}$  apresentaram pontos de equivalência muito próximos entre elas, isto é, a temperatura não influencia no ponto final da titulação, porém influencia apenas no tempo necessário para se consumir 90% do titulante.

Por questão de menor tempo experimental e por apresentar semelhança à padronização do permanganato de potássio, selecionou-se a temperatura de 60°C para os estudos posteriores.



**Figura 6:** Estudo da influência da temperatura na determinação de minoxidil por análise titrimétrica.

#### 6.3.5. Estudo da repetitividade

Antes do método proposto ser aplicado em amostras comerciais estudou-se a sua repetitividade em uma solução padrão de minoxidil, titulo-se dez vezes as mesmas soluções de minoxidil padrão, os resultados são apresentados na Tabela 5.

**Tabela 5:** Resultados obtidos no estudo da repetitividade do método titrimétrico com  $\text{KMnO}_4$

Replicata	Volume do ponto final / mL
1	6,10
2	6,10
3	5,90
4	5,95
5	6,10
6	6,05
7	6,05
8	5,85
9	5,95
10	6,15

Média dos pontos finais = 6,02 mL;

Desvio padrão = 0,101;

Ponto de equivalência calculado = 5,96 mL;

Erro % = [(média – calculado) / calculado].100 = 1,01 %;

Volume de  $\text{KMnO}_4$  = 5,00 mL;

$[\text{KMnO}_4] = 2,13 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  e

$[\text{minoxidil}] = 1,05 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$

Foram executadas dez titulações, as quais apresentaram o volume mínimo do ponto final igual a 5,85 mL, o volume máximo do ponto final igual à 6,15 mL, a média dos volumes dos pontos finais igual a 6,02 e o volume calculado do ponto de equivalência igual a 5,96 mL. Aplicou-se o teste t-Student, que apontou concordância no nível de confiança de 90% para o teste de repetitividade em relação ao método proposto.

### 6.3.6. Análise das amostras comerciais

Após a otimização do sistema e o estudo repetitividade, aplicou-se o método desenvolvido em duas amostras comerciais contendo minoxidil (*Neoxidil*<sup>®</sup> e *Regaine*<sup>®</sup> ambos lote A). Investigou-se a provável interferência do etanol e do propilenoglicol, presentes como veículo nas formulações farmacêuticas [38,39]. Os grupos hidroxila presentes no etanol e no propilenoglicol poderiam ser oxidados pelo permanganato de potássio. Portanto amostras foram preparadas mantendo o veículo e extraíndo o mesmo.

A preparação das amostras das quais não foi extraído o veículo, consistiram na simples diluição de um volume exato da solução tópica em ácido sulfúrico 2,00 mol L<sup>-1</sup>, suficiente para atingir a concentração de 1,00 mol L<sup>-1</sup>. Enquanto que para as amostras das quais foi extraído o veículo, o minoxidil foi separado do meio alcoólico das formulações farmacêuticas, da seguinte forma:

- Inicialmente, extraiu-se o máximo de etanol contido em um volume conhecido de amostra com auxílio de um evaporador rotatório a 70 °C com pressão reduzida. Nessa etapa, o propilenoglicol (ponto de ebulição = 187,2 °C) não é eliminado, devido a seu ponto de ebulição ser maior que o do etanol (ponto de ebulição = 78.5°C), a amostra não é seca completamente, formou-se uma mistura viscosa de minoxidil e propilenoglicol;
- Adicionou-se acetona à mistura viscosa para a precipitação do minoxidil;
- O minoxidil foi separado por filtração a vácuo, utilizando-se um funil de uma placa sinterizada;

- Secou-se o precipitado em estufa a aproximadamente 60 °C por 30 minutos;
- O precipitado seco foi diluído em ácido sulfúrico 2,00 mol L<sup>-1</sup>, obtendo-se a solução de trabalho.

Titularam-se amostras contendo etanol e propilenoglicol e amostras que sofreram o processo de extração do etanol e do propilenoglicol. Comparando-se os pontos finais das titulações das amostras sem extração ou com extração do veículo, verificou-se que o etanol e propilenoglicol contidos nos fármacos não interferiram no método de determinação proposto para o minoxidil (Tabela 6).

**Tabela 6:** comparação entre os pontos finais das titulações das amostras com e sem extração do veículo

<b>Amostras</b>	<b>veículo extraído / ml*</b>	<b>Sem extração do veículo / mL*</b>
<i>Neoxidil</i> <sup>®</sup>	19.5± 0,03	19,2 ± 0,12
<i>Regaine</i> <sup>®</sup>	19,6± 0,01	19,8 ± 0,13

\* n = 3

Portanto decidiu-se analisar a amostras comerciais sem a extração do veículo, devido a maior simplicidade do procedimento.

As análises das amostras comerciais obedeceram aos parâmetros definidos nos estudos citados anteriormente:

- Solução de minoxidil como titulante;
- Solução de  $\text{KMnO}_4$  como titulado;
- $[\text{KMnO}_4] \approx 2,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- $[\text{H}_2\text{SO}_4] \approx 2,00 \text{ mol L}^{-1}$ ;
- $[\text{minoxidil}] = 1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- Agitação vigorosa;
- Temperatura de  $60^\circ\text{C}$ .

Seguindo os parâmetros definidos nos estudos de otimização do método proposto para a determinação de minoxidil, as amostras comerciais, *Neoxidil*<sup>®</sup> e *Regaine*<sup>®</sup>, foram analisadas e os resultados são apresentados na Tabela 7.

**Tabela 7:** Resultados obtidos na análise da amostra comparados com o rótulo e com o método comparativo

Amostras	Rótulo <sup>a</sup>	Titulação <sup>b*</sup>	Comparativo <sup>b*</sup>	E <sub>1</sub> / % <sup>c</sup>	E <sub>2</sub> / % <sup>d</sup>
<i>Neoxidil</i> <sup>®</sup>	20,0	19,2 ± 0,12	19,4 ± 0,41	-4,00	-1,03
<i>Regaine</i> <sup>®</sup>	20,0	19,8 ± 0,13	20,9 ± 0,47	-1,00	-5,26

\* n = 3

a – valores dados em  $\text{mg mL}^{-1}$

b – valores dados em  $\text{mg mL}^{-1} \pm$  desvio padrão, lote A

c – erros relativos ao rótulo

d – erros relativos ao método comparativo

O resultados obtidos (Tabela 7) pelo método proposto se mostraram coerentes com os valores rotulados das amostras comerciais e com o método comparativo. Foram calculados os níveis de confiança em que o método proposto concorda com o valor rotulado das amostras comerciais e com o método comparativo, usando o teste t-Student (Tabela 8) [43].

**Tabela 8:** Níveis de confiança em que concordam os resultados obtidos pelo método proposto em relação ao rótulo e ao método comparativo

<b>Amostras</b>	<b>Nível de confiança / %</b>	
	<i>Rótulo</i>	<i>Comparativo</i>
<i>Neoxidil</i> <sup>®</sup>	99,9	90,0
<i>Regaine</i> <sup>®</sup>	95,0	95,0

### 6.3.7. Teste de adição e recuperação

A exatidão do método proposto foi avaliada pelo teste de adição e recuperação, observando-se recuperação entre 94,5 % e 95,2 % (n =4), na determinação de minoxidil, em ambas as formulações farmacêuticas (Tabela 7). O teste de adição e recuperação obedeceu aos parâmetros otimizados para esse método, supondo os quais as concentrações totais de minoxidil nas amostras dopadas com padrão não puderam ultrapassar ao valor de  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  do analito. Obedecendo à concentração de minoxidil investigada anteriormente,  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , adicionou-se quantidade de solução padrão de minoxidil à solução contendo o volume necessário de solução tópica de modo a totalizar ora  $0,30 \times 10^{-2}$ , ora  $0,70 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  de padrão e quantidades de solução das

amostras suficientes para completar  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  em minoxidil. Os resultados são apresentados na Tabela 9.

**Tabela 9:** Resultados da adição e recuperação

<b>Amostra</b>	<b>Adição / %</b>	<b>Recuperação<sup>a</sup> / %</b>
<i>Neoxidil</i> ®	30	94,50
	70	95,02
<i>Regaine</i> ®	30	95,02
	70	95,23

A – n = 4 determinações

#### 6.4. Conclusões

A determinação titrimétrica de minoxidil em formulações farmacêuticas usando permanganato de potássio mostrou-se ser um método de aplicação simples e de baixo custo com relação aos materiais empregados na análise. Os valores de concentração de minoxidil obtidos pelo método proposto foram concordantes tanto quanto ao rótulo e tanto quanto ao método comparativo. Portanto conclui-se que o método aqui proposto é eficiente na determinação de minoxidil em amostras comerciais, dentro das limitações de um procedimento volumétrico clássico.



## **7. EMPREGO DA TITULAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA A DETERMINAÇÃO DE MINOXIDIL EM FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS USANDO PERMANGANATO DE POTÁSSIO**

### *7.1. Introdução*

Diversos métodos analíticos foram descritos para a determinação do minoxidil em matrizes como plasma, urina e produtos farmacêuticos. A grande maioria desses métodos é instrumental e, em particular, são métodos cromatográficos [44-46]. O capítulo anterior sugeriu a determinação de minoxidil usando a análise titrimétrica com detecção visual. Nesta parte do trabalho, foi proposta a determinação de minoxidil usando detecção espectrofotométrica.

A análise titrimétrica com detecção espectrofotométrica consiste em um procedimento no qual o ponto de equivalência é detectado empregando um espectrofotômetro [27-28]. Esse método fornece resultados mais exatos quando comparado à determinação espectrofotométrica direta, desde que os dados de diversas medidas sejam usados para determinar o ponto final da análise titrimétrica. A titulação espectrofotométrica tem sido empregada na determinação de moléculas biológicas, drogas, metais, etc. [46-48].

Nesse tipo de análise, as alíquotas de titulante são adicionadas ao sistema a fim produzir a reação. No caso da titulação do permanganato de potássio com o minoxidil com o auxílio do espectrofotômetro é possível monitorar o decréscimo da absorbância da solução de permanganato de potássio em função do volume de solução de minoxidil adicionado. A absorbância inicial era ajustada em 1,00 com relação à concentração de permanganato de potássio [49-55].

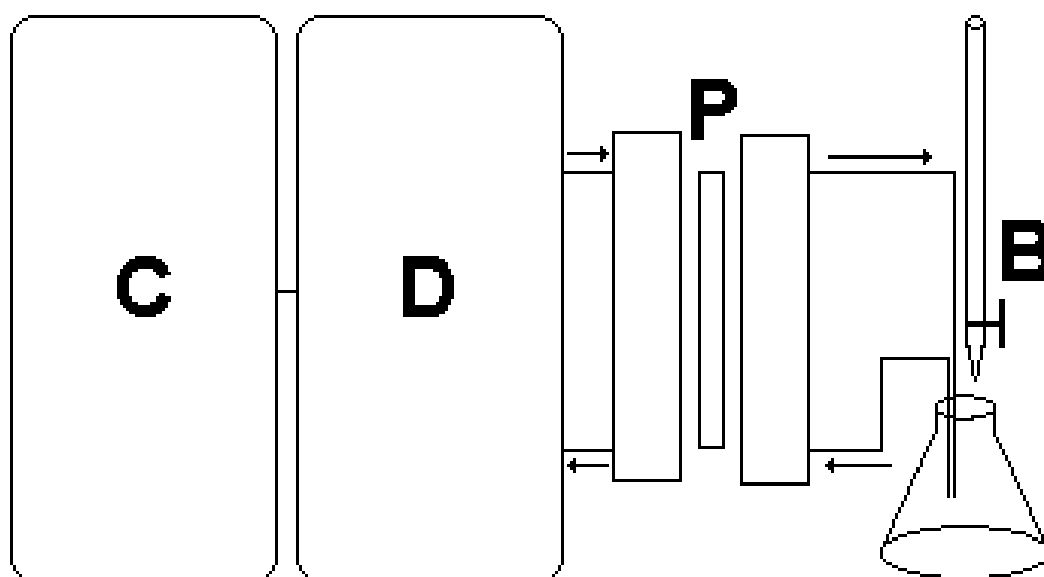
## *7.2. Experimental*

### *7.2.1. Reagentes e equipamentos*

Todos os reagentes usados nesse trabalho foram de grau analítico, PA. As soluções foram preparadas usando água bidestilada em um destilador de quartzo. As soluções de permanganato do potássio (Merck) foram preparadas pela dissolução do sal em água bidestilada. As soluções de permanganato de potássio foram padronizadas com soluções de oxalato de sódio (Merck) dissolvido em ácido sulfúrico (Mallinckrodt)  $2,00 \text{ mol L}^{-1}$  [56]. O minoxidil foi fornecido pela *Natural Pharma Produtos Farmacêuticos Ltda*, lote nº 1901, como descrito anteriormente.

As soluções foram propelidas com a ajuda de uma bomba peristáltica Ismatec IPC – 8 canais, que forneceu fluxo contínuo. Foram usados tubos de tygon e de polietileno com 0,8 milímetros de diâmetro interno Cole

Parmer para conduzir as soluções dos reagentes. As variações no valor de absorvância foram monitoradas com o auxílio de um espectrofotômetro Genesis 20 Spectronics. Os experimentos foram realizadas em temperatura ambiente (aproximadamente 25<sup>o</sup>C) sob rigorosa agitação, usando um conjunto de barra magnética e agitador magnético Corning. A solução de minoxidil foi adicionada por uma bureta com incremento de 0,50 mL por adição. A leituras de absorvância eram obtidas após a estabilização devido a homogeneização do sistema após cada adição de amostra. O esquema da análise titrimétrica com detecção espectrofotométrica é representado na Figura 7.



**Figura 7:** Esquema utilizado na análise titrimétrica com detecção espectrofotométrica: C – computador; D – espectrofotômetro; P – bomba peristáltica e B – bureta.

### 7.1.2. Procedimento

Sabendo que o permanganato de potássio não é padrão primário foi necessário padronizá-lo, como descrito anteriormente, e, após padronização, diluí-lo para  $3,20 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  para alcançar a absorvância igual a 1,00. Em seguida era adicionada uma alíquota de 25,00 mL da solução permanganato de potássio, previamente padronizada e diluída, para um erlenmeyer, que era adaptado a um sistema de fluxo contínuo.

A vazão do fluxo contínuo do sistema foi ajustada na ordem de  $17,00 \text{ mL min}^{-1}$ . Adicionou-se alíquotas de 500  $\mu\text{L}$  da solução de minoxidil, até descoramento completo do permanganato de potássio.

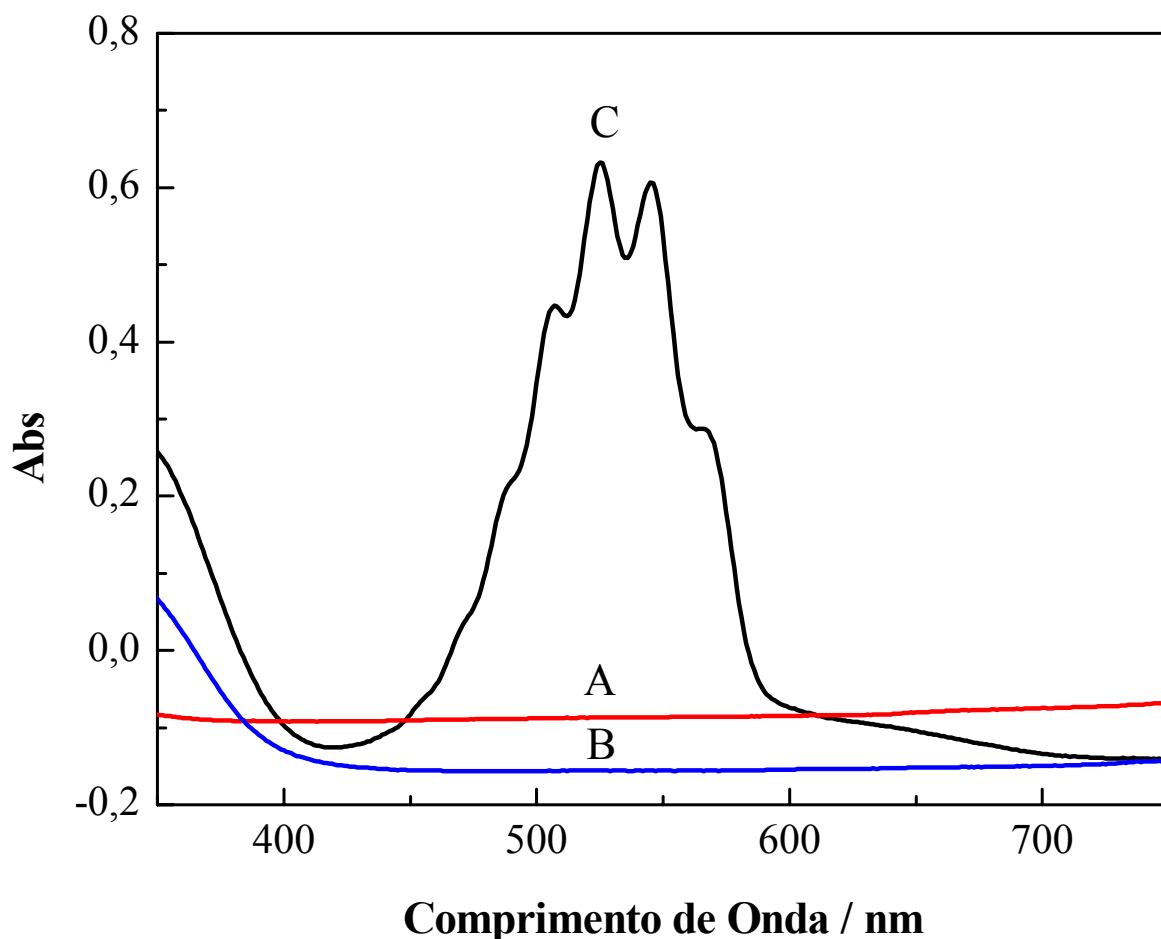
A vazão, relativamente elevada, foi necessária para a completa homogeneização da mistura do titulado com titulante a cada adição de alíquota, assim estabilizando rapidamente a absorvância, sendo este o fator predominante na rapidez do procedimento [50]. A temperatura usada para as titulações foi de  $25^{\circ}\text{C}$ , pois como discutido no trabalho anterior (página 33, item 6.3.4), a temperatura não influencia no ponto final da titulação, mas influencia apenas no tempo com que a reação entre o analito e permanganato ocorre, entretanto em temperaturas mais elevadas ouve o favorecimento da formação de bolhas no sistema prejudicando no tempo de análise.

### *7.3. Resultados e discussão*

#### *7.3.1. Estudo do efeito do comprimento de onda*

Estudou-se o comprimento de onda do máximo de absorção para a solução de permanganato de potássio, comparando-se os espectros de absorção da solução de permanganato de potássio, da solução de minoxidil e dos produtos da reação redox. Com o auxílio dos espectros obtidos, notou-se que o permanganato de potássio não sofre interferência dos produtos e nem do minoxidil no intervalo de 450 a 600 nm, assim pode-se monitorar a reação redox na região visível do espectro (Figura 8).

Fixou-se 550 nm como comprimento de onda para o desenvolvimento da análise titrimétrica com detecção espectrofotométrica. O comprimento de onda de 550 nm está situado exatamente na região de 450 a 600 nm do espectro de absorção a qual não apresenta interferência pela absorção nem dos produtos da reação redox, nem do minoxidil.



**Figura 8:** Espectro de absorção dos reagentes e produtos da reação redox entre o permanganato de potássio e o minoxidil, onde: A – Solução de minoxidil, B – produtos da reação redox e C – solução de  $\text{KMnO}_4$ .

### 7.3.2 Estudo do efeito da diluição

A adição de alíquotas de titulante gera o efeito de diluição no sistema, com conseqüente diminuição da absorbância de acordo com a lei de Beer [23-26]. Este efeito pode ser minimizado usando-se soluções concentradas, desta maneira, impedindo-se grandes volumes do titulante [56-57]. Entretanto, mesmo com a cautela de usar-se sempre soluções com concentrações apropriadas o efeito de diluição é inevitável. Na intenção de minimizar o efeito

de diluição foi usada uma equação que corrige ponto a ponto o valor da absorvância (Equação 10) [29, 30].

$$A_{corr} = A_{lida} \times \left( \frac{V + v}{V} \right) \quad (10)$$

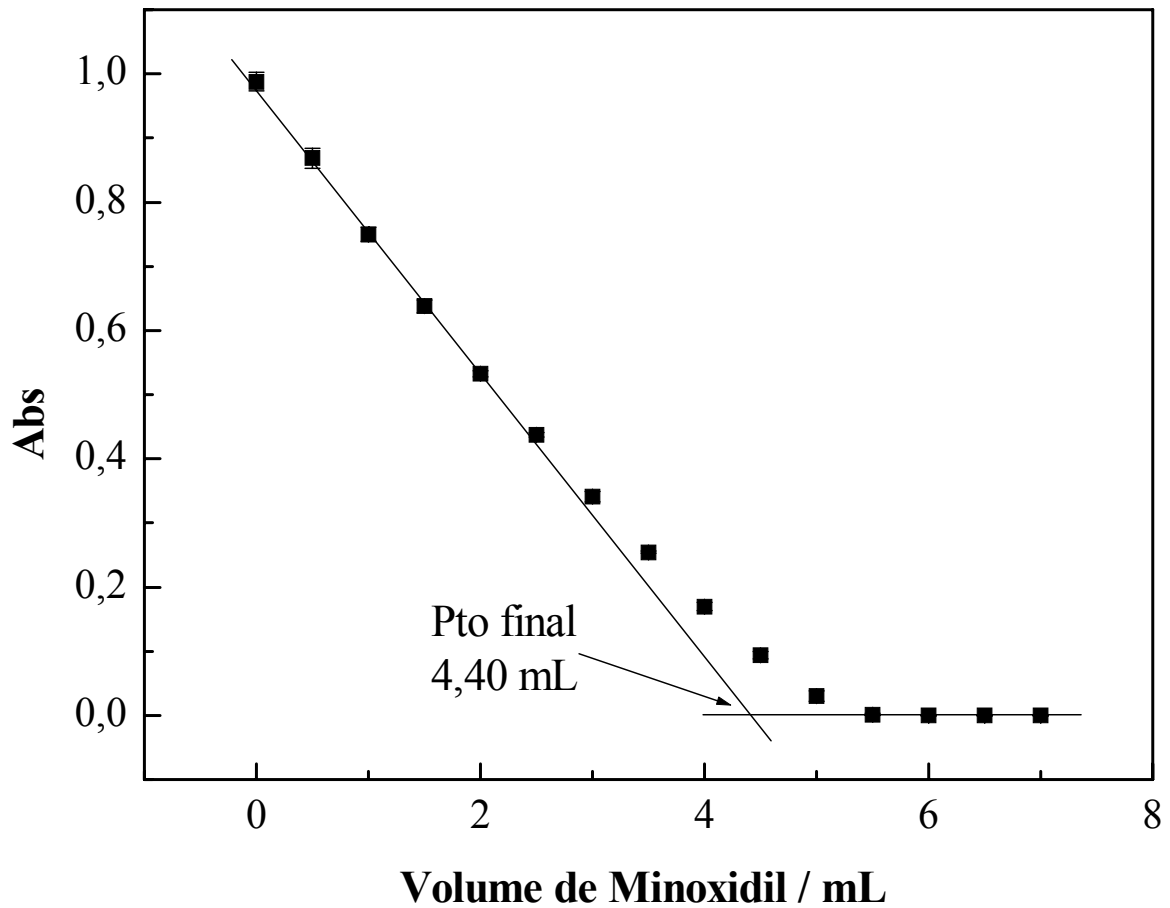
Os componentes da Equação 10 são:

- $A_{corr}$  = absorvância corrigida,
- $A_{lida}$  = absorvância lida,
- $V$  = volume de titulado e
- $v$  = volume de titulante acumulado.

A curva mostrada na Figura 9 foi traçada a partir da absorvância obtida em função do volume de solução de minoxidil  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  adicionado, traçada sem a correção da absorvância. Pode-se notar que há uma tendência de curva ao se aproximar do zero na absorvância. A tendência de curva provoca um desvio no volume do ponto final da análise assim induzindo a um desvio significativo com relação ao ponto de equivalência. Para essa titulação o ponto final foi de 4,40 mL, enquanto o ponto de equivalência esperado é 4,70 mL causando um erro relativo de  $-6,82 \%$ .

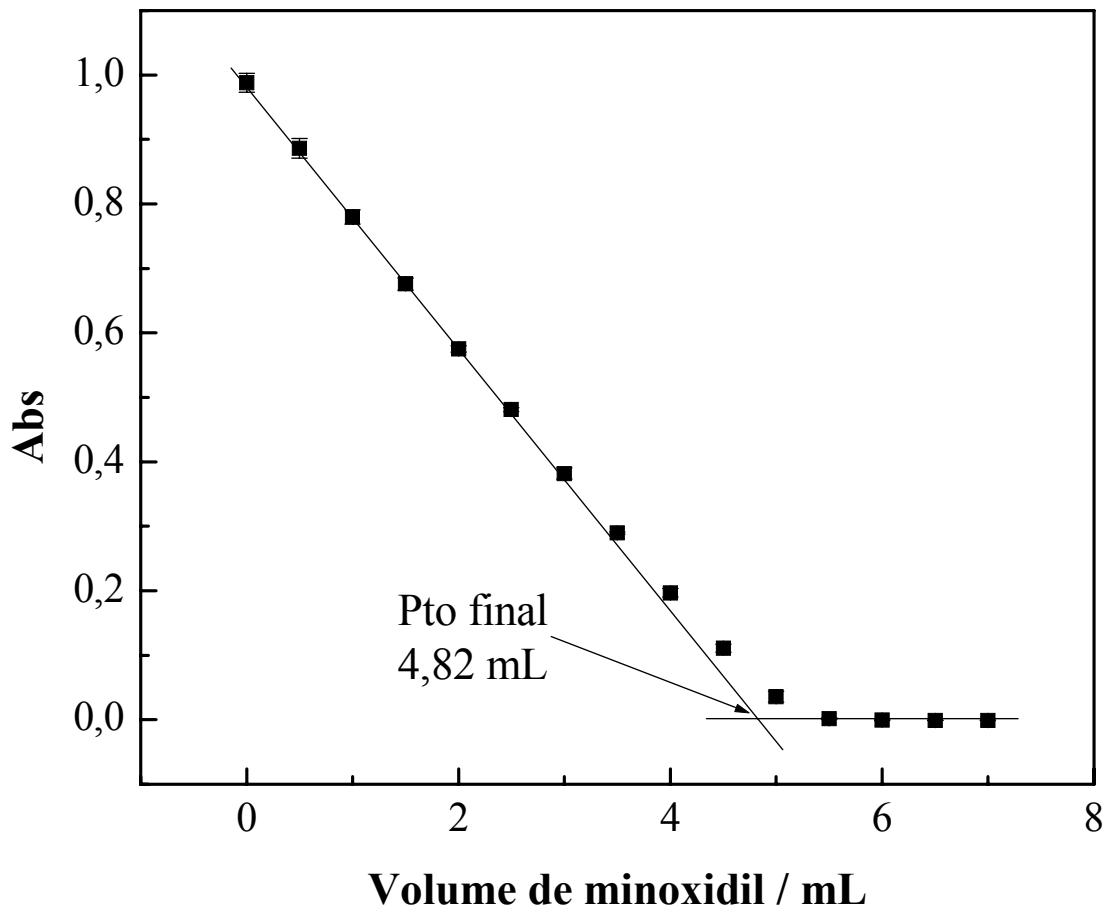
No entanto, ao se corrigir a absorvância com a Equação 10 (Figura 10), a tendência de curvatura é minimizada e o desvio do ponto final com relação ao ponto de equivalência é diminuído. O ponto final da análise foi determinado em 4,82 mL enquanto o ponto de equivalência esperado é de 4,70 ml causando um erro relativo de  $+2,55 \%$ . Comparando-se o erro obtido na curva sem correção ( $-6,82 \%$ ) com o erro obtido na curva com correção ( $+2,55$

%) com o valor do ponto final da curva, pode-se concluir que com correção é mais próximo ao do ponto de equivalência.



**Figura 9:** Curva obtida na titulação com detecção espectrofotométrica usando uma solução de minoxidil padrão de concentração  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  sem correção da absorbância.





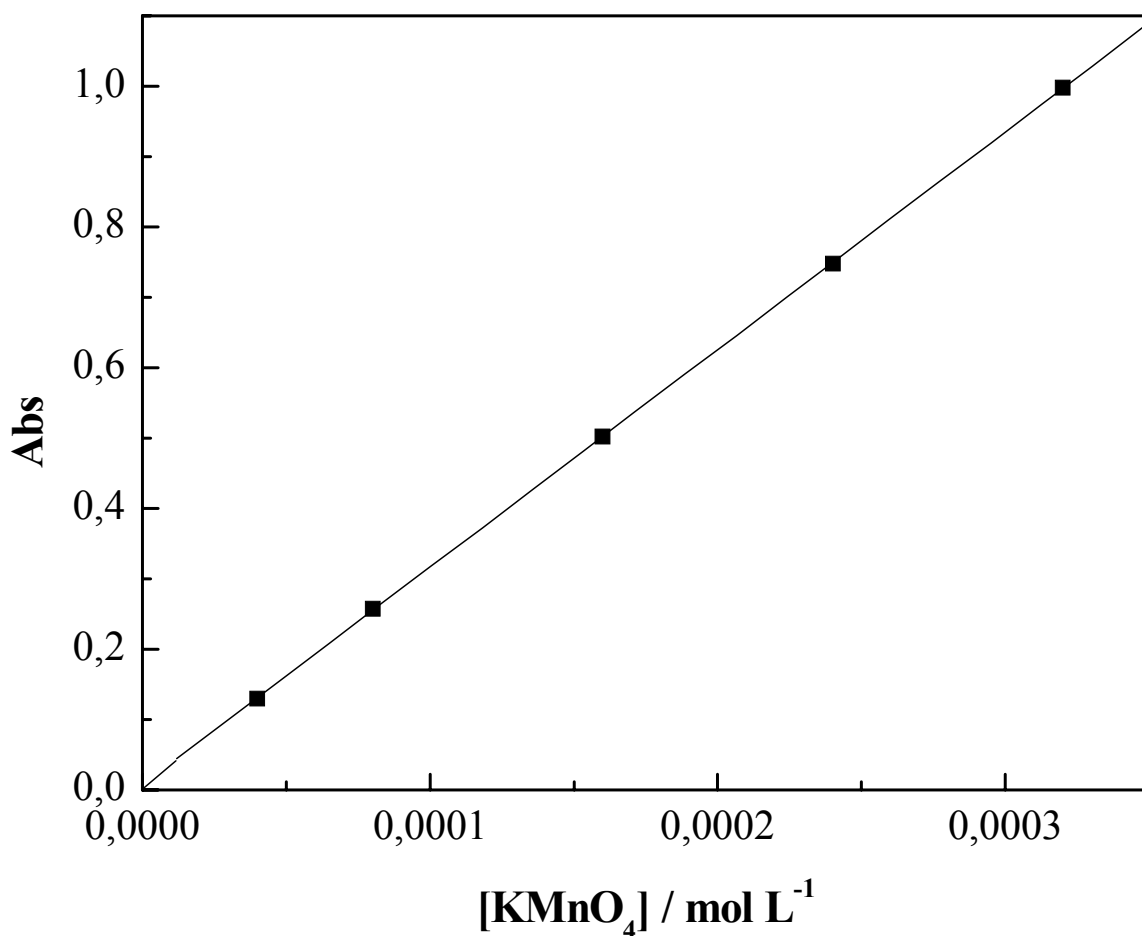
**Figura 10:** Curva obtida na titulação com detecção espectrofotométrica usando uma solução de minoxidil padrão de concentração  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  com correção da absorbância.

### 7.3.3 Estudo do efeito da concentração de permanganato de potássio

A verificação da obediência de lei de Beer e o intervalo de concentração para resposta linear são, fundamentais, no estabelecimento de um método de titulação espectrofotométrica. Isto foi feito neste trabalho variando-se a concentração de permanganato de potássio e medindo-se a absorbância entre  $2,38 \times 10^{-4}$  e  $9,53 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ , sendo que a absorbância igual a 1,00 foi obtida com concentração de permanganato de potássio na ordem de  $3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

No intervalo de  $4,00 \times 10^{-5}$  a  $3,20 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  (Figura 11) de permanganato de potássio, observou-se resposta linear que obedeceu a equação de reta (Equação 9):

$$\text{Abs} = 3,01 \times 10^3 \cdot [\text{minoxidil}] + 7,51 \times 10^{-3} \quad (9)$$



**Figura 11:** Gráfico da absorvância em função da concentração o qual atende a lei de Lambert-Beer

Com absorvâncias típicas para aquelas observadas durante as titulações partindo-se da solução de permanganato de potássio com absorvância inicial igual à unidade, como se pode observar na Tabela 10.

O coeficiente angular sugere um valor de  $3,01 \times 10^3 \text{ mol L}^{-1}$  para o coeficiente de absorvidade molar para o  $\text{MnO}_4^-$ .

**Tabela 10:** valores de absorvância obtidos em função da concentração de permanganato de potássio

$[\text{KMnO}_4] / \text{mol L}^{-1*}$	Abs
$3,2 \times 10^{-4}$	0,998
$2,4 \times 10^{-4}$	0,748
$1,6 \times 10^{-4}$	0,502
$8,0 \times 10^{-5}$	0,257
$4,0 \times 10^{-5}$	0,130

\* n = 3

#### 7.3.4. Estudo do efeito da concentração de titulante e titulado no ponto final da análise titrimétrica

As concentrações de minoxidil foram investigadas na intenção de determinar a concentração ótima para o titulante.

Estudaram-se diferentes concentrações para o minoxidil, essas concentrações foram:

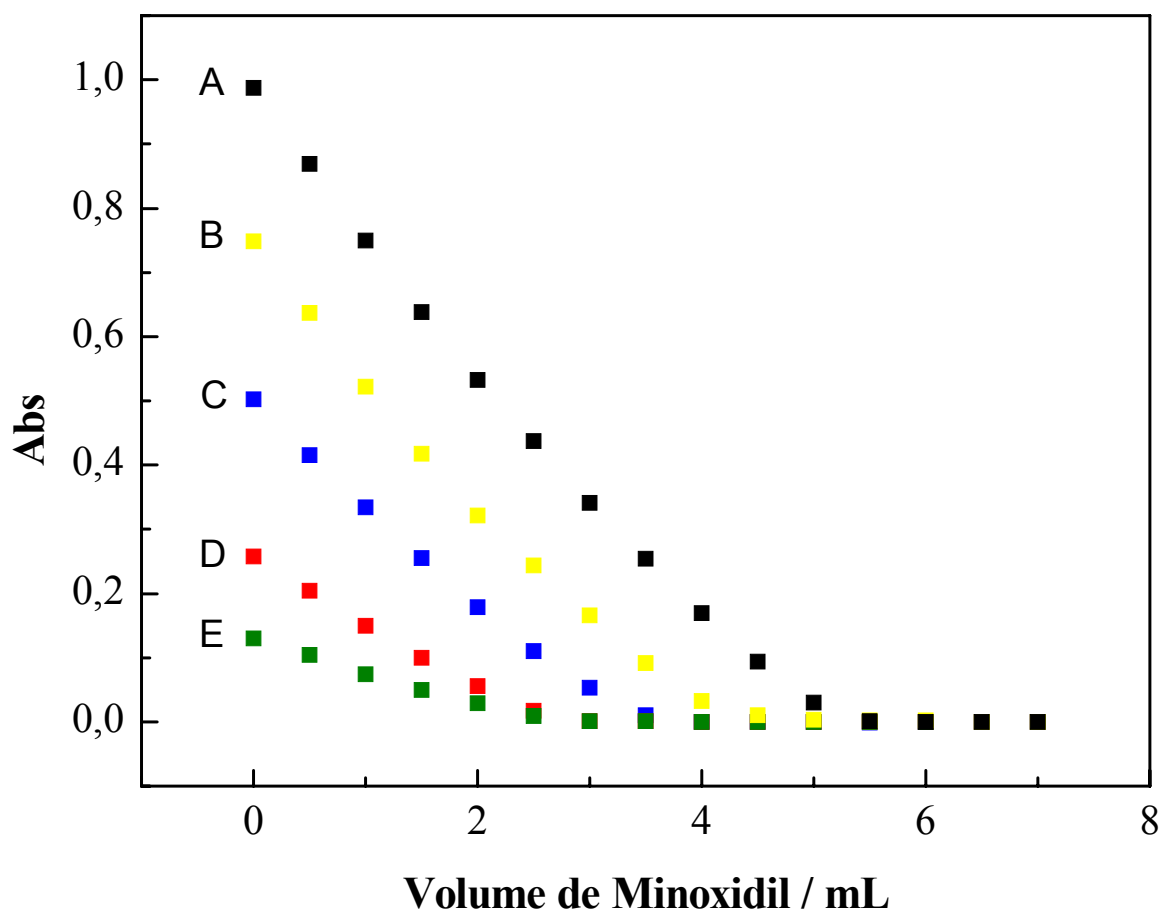
- $1,00 \times 10^{-3}; \text{mol L}^{-1}$ ,
- $2,00 \times 10^{-3}; \text{mol L}^{-1}$ ,
- $1,00 \times 10^{-3}; \text{mol L}^{-1}$ ,
- $7,50 \times 10^{-4}; \text{mol L}^{-1}$ ,
- $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  e
- $2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

Entretanto para concentrações maiores que  $1,00 \times 10^{-3}$  houve formação de óxido de manganês o qual impossibilitou a detecção do ponto final da titulação. Outro obstáculo encontrado foi o efeito de diluição, portanto ao se diminuir a concentração de minoxidil também foi diminuída a concentração de permanganato de potássio.

Com a diminuição na concentração do  $\text{MnO}_4^-$ , observou-se perda de sensibilidade do método, evidenciada pela perda de inclinação na primeira porção linear da curva de titulação (Figura 13).

Essa perda de sensibilidade se deve ao aumento do efeito de diluição que ficava cada vez mais intenso com a diminuição da concentração dos reagentes. No entanto, para concentrações menores que  $2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  para o minoxidil e para concentrações menores que  $4,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$  para o  $\text{KMnO}_4$ , o descoramento da solução de permanganato de potássio se deu pelo efeito de diluição e não pela reação redox com o minoxidil.

As concentrações ótimas para o minoxidil e para o permanganato de potássio são, portanto  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  e  $3,20 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  respectivamente, como apresentado na Figura 13.



**Figura 12:** Estudo do efeito da concentração de titulante e titulado no ponto final da análise titrimétrica, sendo:

- A –  $[\text{minoxidil}] = 1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} / [\text{MnO}_4] = 3,20 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- B –  $[\text{minoxidil}] = 1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1} / [\text{MnO}_4] = 2,40 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- C –  $[\text{minoxidil}] = 7,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} / [\text{MnO}_4] = 1,60 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- D –  $[\text{minoxidil}] = 5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} / [\text{MnO}_4] = 8,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- E –  $[\text{minoxidil}] = 2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1} / [\text{MnO}_4] = 4,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ .

### 7.3.5. Parâmetros otimizados

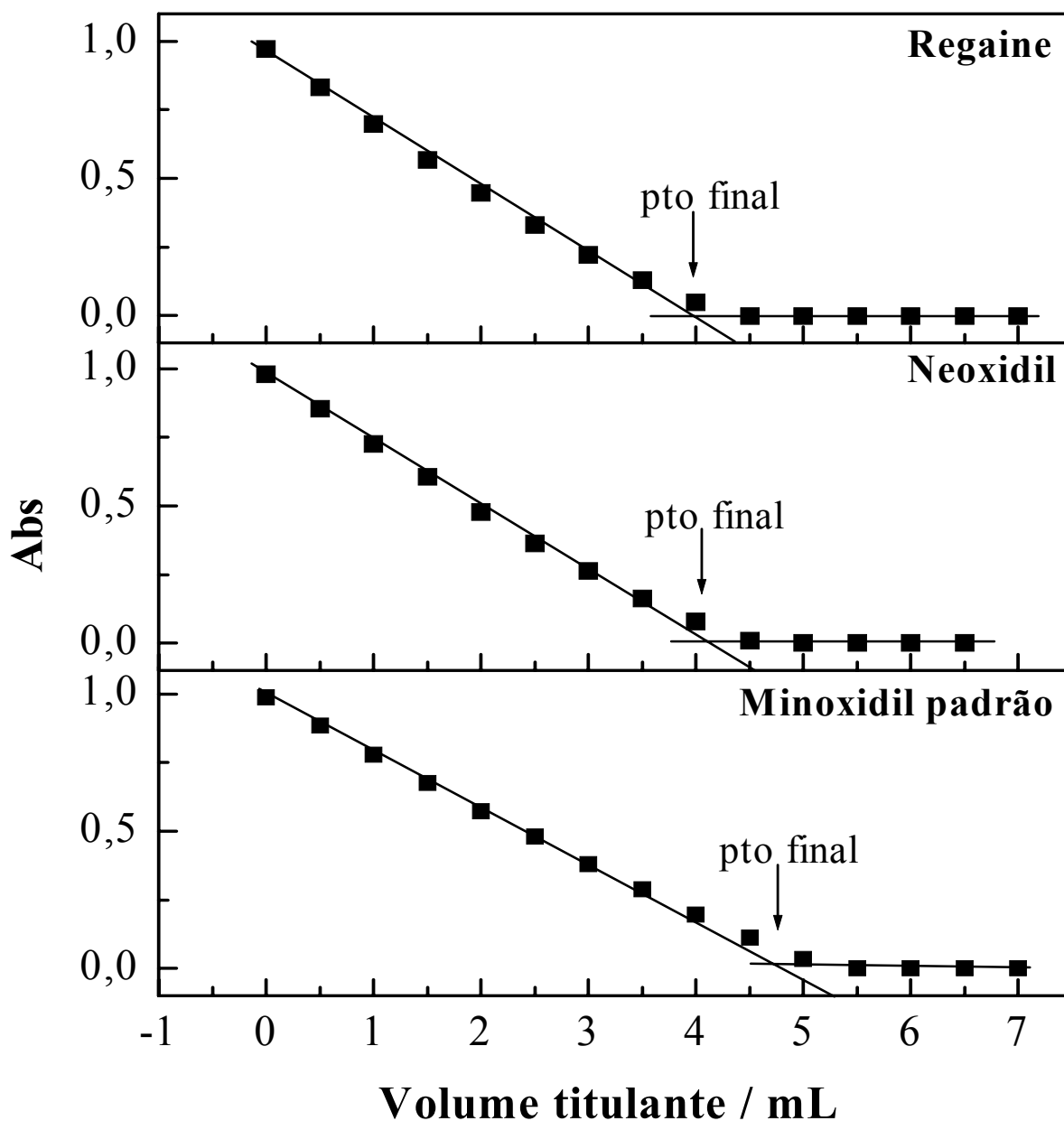
Os estudos anteriores estabeleceram parâmetros para a realização das análises das amostras comerciais. Os parâmetros estabelecidos foram:

- Adição de 0,500 mL de solução de minoxidil;
- $[\text{minoxidil}] = 1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- $[\text{KMnO}_4] = 3,20 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- $\lambda = 550 \text{ nm}$ ;
- Fluxo contínuo na ordem de  $17,00 \text{ mL min}^{-1}$ ;
- Temperatura =  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  (ambiente);
- Adiciona-se alíquotas de solução de minoxidil a  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ;
- A titulação chega a o fim após definir o segundo seguimento de reta, que nesse como deve ser paralelo ao eixo das abscissas.

### 7.3.6. Análise das amostras comerciais

Com os parâmetros do método definidos, as amostras comerciais puderam ser analisadas. As amostras comerciais utilizadas para a análise foram o *Neoxidil*<sup>®</sup> e *Regaine*<sup>®</sup>, ambos do lote B, contendo em ambos 2% de minoxidil ( $20 \text{ mg mL}^{-1}$ ).

As curvas das titulações espectrofotométricas, seguindo os parâmetros definidos e com absorbância corrida pela Equação 10, das amostras comerciais e do padrão de minoxidil são apresentadas na Figura 13.



**Figura 13:** Exemplos de curvas de titulações espectrofotométricas do minoxidil padrão na concentração  $9,62 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , *Regaine*<sup>®</sup> e *Neoxidil*<sup>®</sup> ambos diluídos para  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ .

Condições:

[minoxidil] =  $1,00 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $[\text{KMnO}_4]$  =  $3,20 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ;  $\lambda$  = 550 nm; Fluxo contínuo na ordem de  $17,00 \text{ mL min}^{-1}$  e Temperatura =  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Na Tabela 11 apresentam-se os resultados obtidos pela titulação espectrofotométrica comparada com o valor rotulado das amostras comerciais e com o método comparativo cromatográfico.

**Tabela 11:** Resultados das titulações espectrofotométricas comparados com o valor rotulado para as amostras comerciais e com o método comparativo cromatográfico

<b>Amostras</b>	<b>Rótulo / mg ml</b>	<b>Titulação / mg mL<sup>-1</sup></b>	<b>Comparativo / mg ml</b>
<i>Neoxidil®</i>	20,00	21,6 ± 0,08	20,8 ± 0,41
<i>Regaine®</i>	20,00	21,7 ± 0,25	20,9 ± 0,54

\* n = 3 determinações

A partir do teste t-Student foi possível concluir que os resultados de ambos os procedimentos concordam entre si com 90 % de confiança.

### 7.3.7. Teste de adição e recuperação

O teste de adição e recuperação foi utilizado usando os parâmetros otimizados para o método proposto nesse capítulo. Portanto, adicionou-se uma alíquota da solução padrão com concentração conhecida à solução da amostra comercial. A alíquota adicionada foi de 40 % v /v da solução padrão à amostra, obtendo-se uma concentração final de  $1,25 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$  em minoxidil (padrão amostra comercial). Os resultados são apresentados na Tabela 12.



**Tabela 12** : Resultados do teste de adição e recuperação

<b>Amostra</b>	<b>Adição do padrão / %</b>	<b>Recuperação / %*</b>
<i>Neoxidil®</i>	40	102,8
<i>Regaine®</i>	40	101,0

\* n = 3 determinações

#### 7.4. Conclusões

A análise titrimétrica com detecção espectrofotométrica é um método simples para a determinação de minoxidil em formulações farmacêuticas. Os teores de minoxidil obtidos pelo método proposto se mostraram concordantes aos teores do analito indicados pelos rótulos dos medicamentos usados como amostras comerciais e, também, mostraram-se concordantes com o método comparativo.

## **8. DETERMINAÇÃO DE MINOXIDIL EM FORMILAÇÕES FARMACÊUTICAS USANDO PERMANGANATO DE POTÁSSIO COMO REAGENTE REDOX EM FLUXO**

### *8.1. Introdução*

A análise por injeção em fluxo envolve a injeção rápida de uma amostra em um fluxo contínuo de carregador não-segmentado [59-60]. Uma ou mais soluções confluem continuamente com o carregador, anteriormente à detecção. A zona de amostragem injetada sofre dispersão, sendo misturada com as soluções carregadoras e reagente. O produto é transportado em direção a um detector no qual ocorrerão as medições e, daí então, para o descarte. A dispersão e ou a diluição da zona de amostra pode ser controlada ou adaptada às análises requeridas pela otimização de vários fatores, tais como o volume de amostra injetado, as vazões do fluido carregador e dos reagentes, o comprimento da bobina de reação e o diâmetro interno da tubulação [35 – 37, 61].

Determinou-se minoxidil em amostras comerciais empregando um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA) com base na reação redox entre o permanganato de potássio e o analito. O método proposto, monitora o decréscimo da absorvância da solução de permanganato de potássio após a injeção de uma alíquota de amostra.

Os princípios e aplicações de análise por injeção em fluxo são amplamente discutidos na literatura [62-64] e fogem aos objetivos desta introdução.

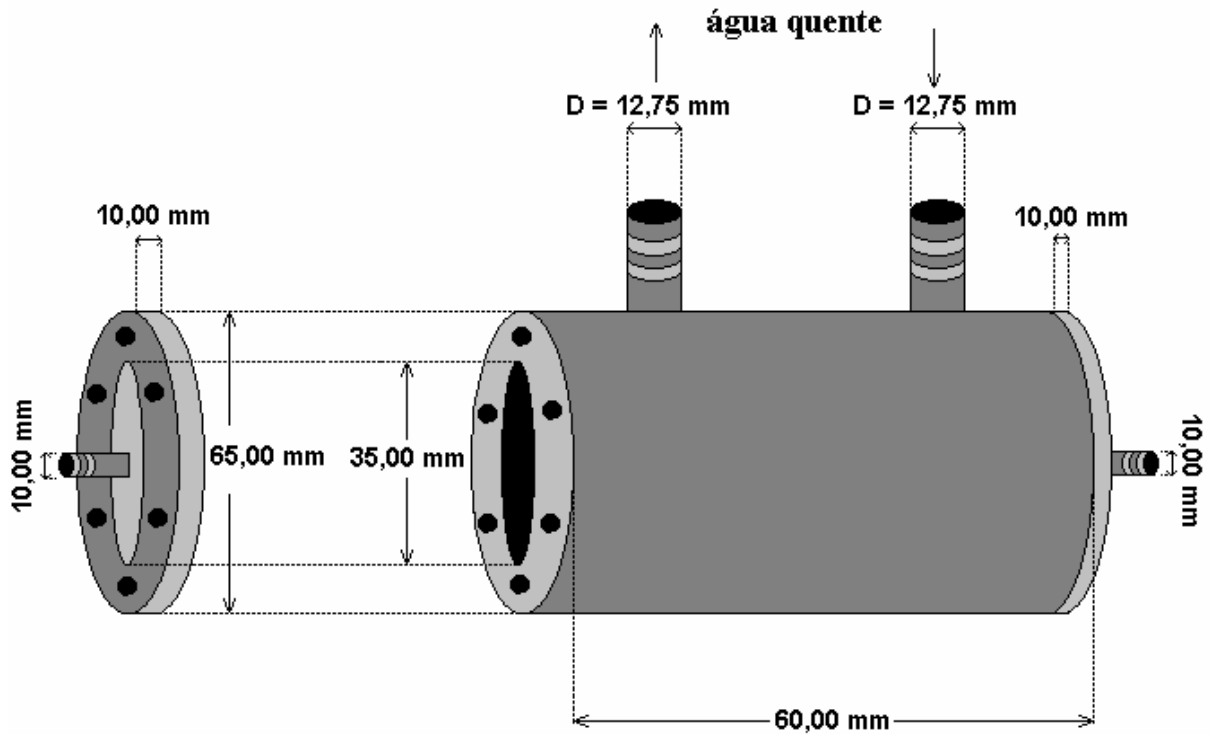
## 8.2. *Experimental*

### 8.2.1. *Reagentes e equipamentos*

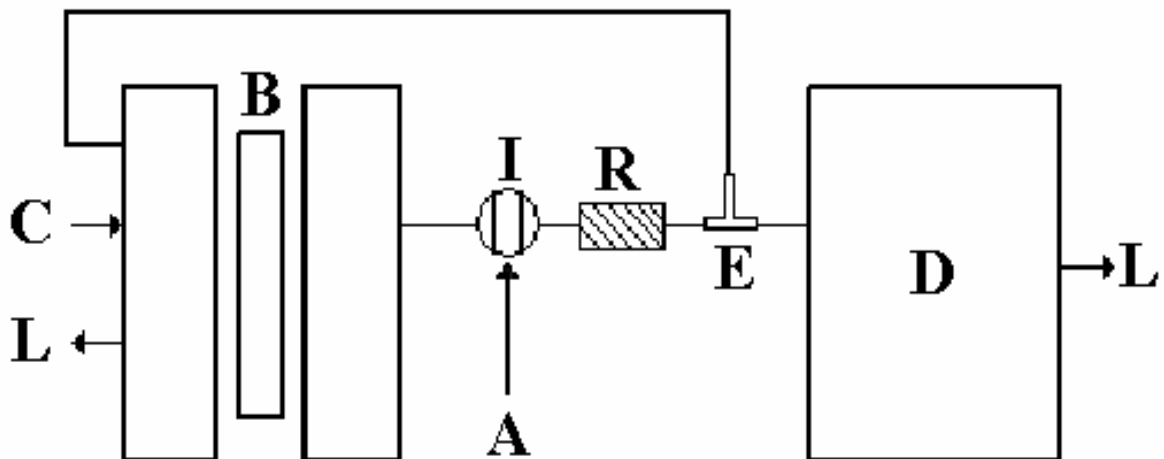
Os reagentes usados para a análise por injeção em fluxo foram de grau analítico, PA. Prepararam-se as soluções com água bidestilada num destilador de quartzo. As soluções de permanganato do potássio (Merck) foram preparadas pela dissolução do sal em ácido sulfúrico (Mallinckrodt) 2,00 mol L<sup>-1</sup>. Como descrito anteriormente, o minoxidil foi fornecido pela *Natural Pharma Produtos Farmacêuticos Ltda*, lote n<sup>o</sup> 1901.

Para a propulsão das soluções foi utilizada uma bomba peristáltica Ismatec IPC – 8 canais. Usou-se tubos de tygon e de polietileno com 0.8 milímetros de diâmetro interno (Cole Parmer), para a condução das soluções e dos reagentes. Com o auxílio de um espectrofotômetro Genesis 20 Spectronics, foram executadas as medidas dos sinais espectrofotométricos. Os experimentos foram realizados a 50 °C com auxílio de um banho termostatizado e de uma câmara, a qual mantinha a circulação da água aquecida oriunda do banho termostatizado em torno do reator helicoidal. A câmara (Figura 14) foi construída na oficina mecânica do IQSC / USP, em poliuretana derivada de óleo

de mamona. Para a eliminação de bolhas formadas pelo aquecimento da solução carregadora, utilizou-se um desborbulhador. O sistema de análise por injeção em fluxo é apresentado na Figura 15.



**Figura 14:** Câmara de poliuretana para o aquecimento da bobina helicoidal.



**Figura 15:** Sistema FIA: A – amostra; B – bomba peristáltica; C – solução carregadora; D – espectrofotômetro; I – injetor comutador; R – reator; para o controle de temperatura da bobina helicoidal, acoplado a um banho termostaticado; E – desborbulhador e L – descarte.

### *8.2.2. Procedimento*

O procedimento proposto mede o decréscimo da absorvância provocado pela reação redox entre o minoxidil e o permanganato de potássio. A solução de permanganato de potássio foi utilizada como a solução transportadora e sua concentração foi da ordem concentração era de  $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  a qual gerava, uma absorvância aproximadamente 1, portanto não havendo a necessidade de padronização prévia. Foi usado um sistema FIA em configuração de linha única e as alíquotas de minoxidil eram inseridas na linha única por um injetor comutador fabricado em acrílico. A reação procedia com temperatura controlada no reator helicoidal, como descrito anteriormente. O decréscimo da absorvância do permanganato de potássio foi monitorado em 550 nm por um espectrofotômetro Genesis 20 (Spectronics).

### *8.3. Resultados e discussão*

#### *8.3.1. Estudo do efeito do comprimento de onda e estudo do efeito da concentração de permanganato de potássio*

A exemplo do trabalho anterior os efeitos do comprimento de onda e da concentração de permanganato de potássio foram estudados. Conforme apresentado na seção 7.3.1 o permanganato de potássio absorve na região do espectro visível, sem a interferência do minoxidil e dos produtos de oxidação, no intervalo de 450 a 600 nm, portanto, no método proposto, a reação entre o

permanganato de potássio e o minoxidil foi monitorada em 550 nm, idem ao capítulo anterior.

O estudo do efeito da concentração de permanganato de potássio, apresentado na seção 7.3.3, indicou a concentração ideal para absorvância igual a 1,00, a concentração de permanganato de potássio foi da ordem de  $3 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ , sendo estas as condições usadas para a realização desta fase do trabalho.

### 8.3.2. planejamento fatorial [65]

O planejamento fatorial permite análise simultânea de variáveis no sentido de otimizar o estudo do sistema [65]. No procedimento proposto, a análise fatorial foi utilizada para obter os melhores valores para vazão, alça de amostragem e reator helicoidal. As três variáveis analisadas simultaneamente geraram  $2^3$  (oito) experimentos. As três variáveis foram avaliadas com relação aos níveis máximo e mínimo de acordo com o planejamento apresentado na Tabela 13.

**Tabela 13:** variáveis em relação aos seus níveis

Variáveis	Níveis	
	Mínimo (-)	Máximo (+)
<i>Alça de amostragem / cm</i>	10,0	100
<i>Reator helicoidal / cm</i>	50,0	200
<i>Vazão / mL min<sup>-1</sup></i>	1,00	4,93

Com o planejamento das variáveis a serem estudadas e os seus níveis definidos, procedeu-se o estudo simultâneo. Os estudos simultâneos das variáveis foram executados no sentido de esclarecer os efeitos provocados pelas combinações das variáveis e seus níveis no sistema FIA (Tabela 14).

**Tabela 14:** Arranjo dos níveis em relação às variáveis

Experimentos	A	B	C	AB	AC	BC	ABC	Média
1	+	+	+	+	+	+	+	0,129
2	+	+	-	+	-	-	-	0,068
3	+	-	+	-	+	-	-	0,174
4	+	-	-	-	-	+	+	0,133
5	-	+	+	-	-	+	-	0,218
6	-	+	-	-	+	+	-	0,318
7	-	-	+	+	-	-	+	0,154
8	-	-	-	+	+	+	-	0,150

**A** – reator helicoidal, **B** – alça de amostragem e **C** – vazão.

A partir da Tabela 14, são montadas equações para se avaliar quais efeitos e suas respectivas ordens são mais relevantes.

*Efeitos de primeira ordem levam em consideração uma variável apenas com seus respectivos níveis.*

$$A = (0,129 + 0,068 + 0,174 + 0,133 - 0,218 - 0,318 - 0,154 - 0,150) / 4 = -0,048 \quad (12)$$

$$B = (0,129 + 0,068 - 0,174 - 0,133 + 0,218 + 0,318 - 0,154 - 0,150) / 4 = 0,031 \quad (13)$$

$$C = (0,129 - 0,068 + 0,174 - 0,133 + 0,218 - 0,318 + 0,154 - 0,150) / 4 = 0,0015 \quad (14)$$

Percebe-se que, para efeitos de primeira ordem:

- A (reator helicoidal) – influencia no sentido do nível menor (-);
- B (alça de amostragem) – influencia no sentido do nível maior (+);
- C (vazão)- efeito pouco pronunciado.

*Efeitos de segunda ordem levam em consideração a multiplicação entre duas variáveis (AB, AC, BC) e as respectivas multiplicações de seus níveis.*

$$AB = (0,129 + 0,068 - 0,174 - 0,133 - 0,218 - 0,318 + 0,154 + 0150) / 4 = -0,086 \quad (15)$$

$$AC = (0,129 - 0,068 + 0,174 - 0,133 - 0,218 + 0,318 - 0,154 + 0150) / 4 = 0,050 \quad (16)$$

$$BC = (0,129 - 0,068 - 0,174 + 0,133 + 0,218 - 0,318 - 0,154 + 0150) / 4 = -0,021 \quad (17)$$

Os efeitos de segunda ordem geram:

- AB (reator helicoidal x alça de amostragem) – influencia no sentido de menor nível (-);
- AC (reator helicoidal x vazão) – influencia no sentido do nível maior (+);
- BC (alça de amostragem x vazão)- influência no sentido de menor nível (-);

*Efeitos de terceira ordem levam em consideração a multiplicação das três variáveis (ABC) e a resultante da multiplicação dos seus níveis.*

$$ABC = (0,129 - 0,068 - 0,174 + 0,133 - 0,218 + 0,318 + 0,154 - 0150) / 4 = 0,031 \quad (18)$$

- ABC (reator helicoidal X alça de amostragem X vazão) – influencia no sentido de maior nível (+);

Considerando-se todos os efeitos percebe-se que realmente a variável que menos interfere é a vazão, portanto, essa pode ser desprezada.



Assim tem-se agora um planejamento fatorial de  $2^2$ , ou seja, quatro experimentos (Tabela 15).

**Tabela 15:** Planejamento fatorial  $2^2$  experimentos

<b>Experimento</b>	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>AB</b>	<b>Média</b>
<i>1</i>	+ 0,100	+ 0,100	+ 0,100	0,100
<i>2</i>	+ 0,150	- 0,150	- 0,150	0,150
<i>3</i>	- 0,270	+ 0,270	- 0,270	0,270
<i>4</i>	- 0,150	- 0,150	+ 0,150	0,150
$\Sigma$	- 0,170	+ 0,0600	- 0,0170	

Com relação à Tabela 15 calculo-se a média geral os sinais é 0,168

*Efeitos de primeira ordem levam em consideração uma variável apenas com seus respectivos níveis.*

$$A = (0,100 + 0,150 - 0,270 - 0,150) / 2 = -0,085 \quad (19)$$

$$B = (0,100 - 0,150 + 0,270 - 0,150) / 2 = 0,035 \quad (20)$$

Percebeu-se que, para efeitos de primeira ordem:

- A (reator helicoidal) – influencia no sentido do nível menor (-);
- B (alça de amostragem) – influencia no sentido do nível maior (+);

*Efeitos de segunda ordem levam em consideração a multiplicação entre duas variáveis, nesse caso AB e seus respectivos níveis.*

$$AB = (0,100 - 0,150 - 0,270 + 0,150) / 2 = -0,085 \quad (21)$$

Os efeitos de segunda ordem geram:

- AB (reator helicoidal x alça de amostragem) – influencia no sentido de menor nível (-);

A partir dos resultados obtidos nos novos experimentos foi construída a Tabela 16, na qual são apresentados os dados obtidos nas análises dos efeitos de primeira e segunda ordem. Considerando-se a fórmula apresentada na Equação 22, substituíram-se os valores apresentados na Tabela 16 nas respectivas incógnitas da Equação 13, assim, obteve-se a Equação 23.

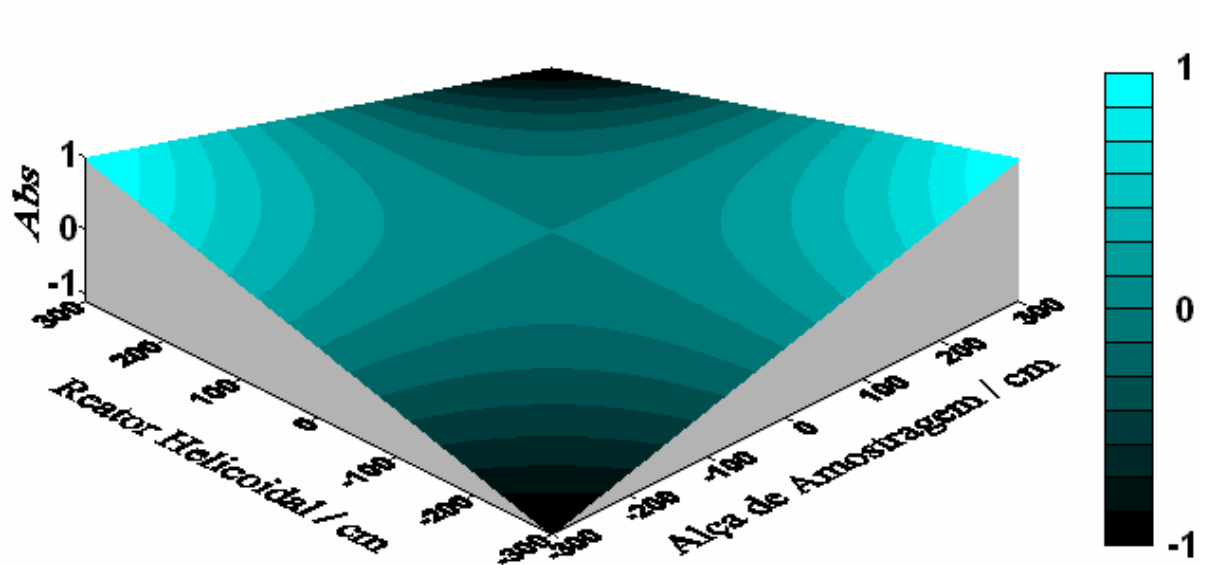
**Tabela 16:** Resultados da segunda bateria de experimentos

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>AB</b>
$\Sigma$	-0,170	0,060	-0,170
<i>Efeito</i>	-0,085	0,030	-0,085
<i>Efeito / 2</i>	-0,042	0,015	-0,042

$$\text{Abs} = \text{média geral} + [(\text{efeitoA})/2].A + [(\text{efeitoB})/2].B + [(\text{efeitoAB})/2].AB \quad (22)$$

$$\text{Abs} = (0,168 - 0,0420.A + 0,0153.B - 0,0428.AB) \quad (23)$$

Utilizando a Equação 13 construiu-se uma superfície de reposta (Figura 16), a partir da qual observou-se a tendência de crescimento da absorvância em dois casos distintos: com o aumento da medida do reator helicoidal e com a diminuição da medida da alça de amostragem e, ainda, com o aumento da medida da alça de amostragem e com a diminuição da medida do reator helicoidal, isto é, o efeito dos tamanhos da alça de amostragem e do reator helicoidal são inversamente proporcional.



**Figura 16:** Superfície de resposta para a otimização da alça de amostragem e do reator helicoidal.

Observando o comportamento inversamente proporcional entre a alça de amostragem e o reator helicoidal, selecionou-se para a alça de amostragem 50,0 cm e para o reator helicoidal 100 cm, esses valores foram selecionados em função da superfície de resposta e ainda em função da economia de reagentes, pois mesmo com valores de medidas maiores para ambos, o sinal obtido não era tão maior.

A vazão mesmo não tendo efeito tão pronunciado, selecionou-se 2,30 mL min<sup>-1</sup> devido à economia de reagentes e também para favorecer a limpeza do percurso analítico.

### 8.3.3. Estudo de efeito da temperatura

Visando melhorar os sinais analíticos, investigou-se a influência da temperatura na reação redox entre o permanganato de potássio e o minoxidil. As temperaturas estudadas foram 20,0; 30,0; 40,0; 50,0 e 60,0 °C (Tabela 16).

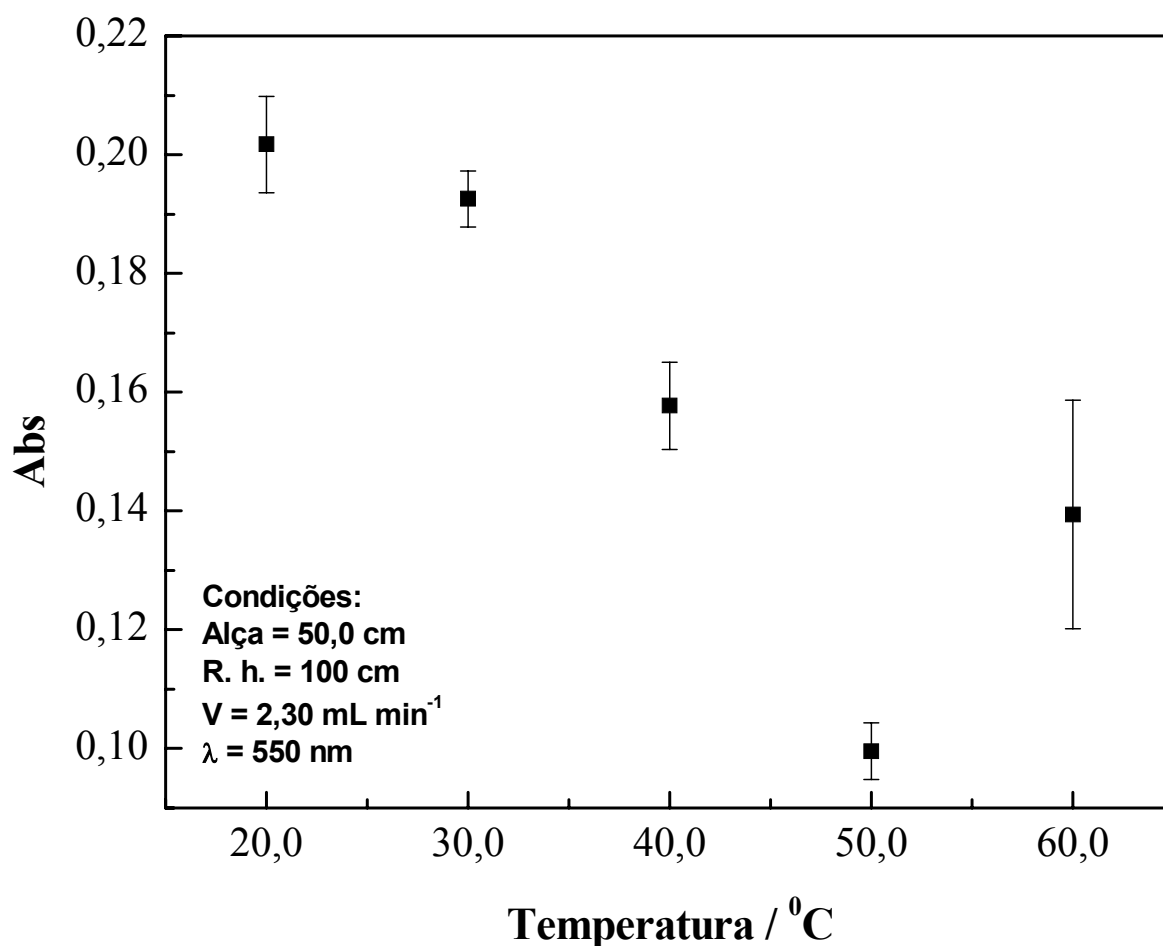
**Tabela 17:** Resultados do estudo do efeito da temperatura

<b>Temperatura / °C</b>	<b>Absorbância média<sup>a</sup></b>	<b>Desvio padrão / ± S</b>
20,0	0,202	$8,12 \times 10^{-3}$
30,0	0,193	$4,72 \times 10^{-3}$
40,0	0,158	$7,39 \times 10^{-3}$
50,0	0,099	$4,79 \times 10^{-3}$
60,0	0,139	$1,92 \times 10^{-2}$

a – n = 5

Foi utilizada nesse estudo a câmara mostrada na Figura 14 acoplada a um banho termostático na intenção de circular água com temperatura controlada ao redor do reator helicoidal.

Os resultados apresentados na Tabela 17 foram tratados graficamente para melhor visualização da temperatura a ser selecionada para o sistema FIA (Figura 18).



**Figura 17:** Estudo do efeito da temperatura na reação entre o minoxidil e o permanganato de potássio.

Visando o melhor sinal e o menor desvio padrão entre as medidas, selecionou-se a temperatura de 50,0 °C para a realização do trabalho.

Uma vez que a temperatura de 50,0 °C mostrou o menor descolorimento do sistema, associado ao menor desvio padrão optou-se por usá-la nos estudos de determinação de minoxidil em fluxo a seguir.

### 8.3.4. Curva analítica

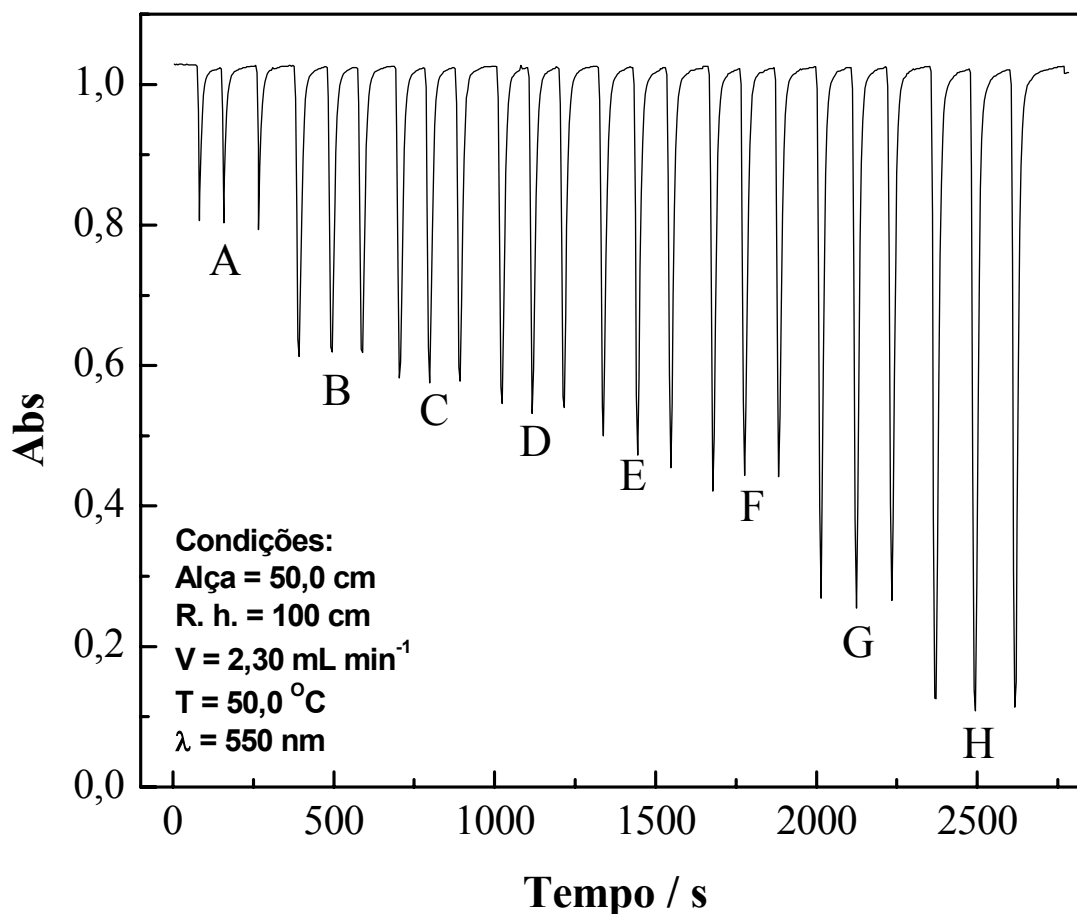
Otimizados os parâmetros para o procedimento em fluxo, os quais são apresentados na Tabela 18, construiu-se uma curva analítica para análise da amostras comerciais.

**Tabela 18:** Parâmetros definidos para a análise por injeção em fluxo

Variáveis	Parâmetros
<i>Alça de amostragem / cm</i>	50,0
<i>Reator helicoidal / cm</i>	100
<i>Vazão / mL min<sup>-1</sup></i>	2,30
<i>Temperatura / °C</i>	50,0
<i>λ / nm</i>	550

A curva analítica foi construída com sete concentrações diferentes de minoxidil, registrando-se o decréscimo da absorvância em 550 nm, o que resultou no fiagrama da Figura 18. também foi feito o registro do branco, que consistiu apenas ácido sulfúrico 2,00 mol L<sup>-1</sup>.

As concentrações de minoxidil usadas para a construção da curva analítica foram: 1,00 x 10<sup>-5</sup>, 2,50 x 10<sup>-5</sup>, 5,00 x 10<sup>-5</sup>, 7,50 x 10<sup>-5</sup>, 1,00 x 10<sup>-4</sup>, 2,50 x 10<sup>-4</sup> e 5,00 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>. Para concentrações menores que 1,00 x 10<sup>-5</sup> mol L<sup>-1</sup> o decréscimo da absorvância mostrou-se praticamente igual ao decréscimo provocado pelo efeito de diluição, já para amostras mais concentradas que 5,00 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>, o decréscimo de absorvância apresentou-se constante devido à saturação do sistema.



**Figura 18:** Sinais transientes referentes aos decréscimos de absorvância, para a solução carregadora de  $\text{KMnO}_4$   $3,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  sendo:

A – branco;

B – [minoxidil] =  $1,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ;

C – [minoxidil] =  $2,50 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ;

D – [minoxidil] =  $5,00 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ;

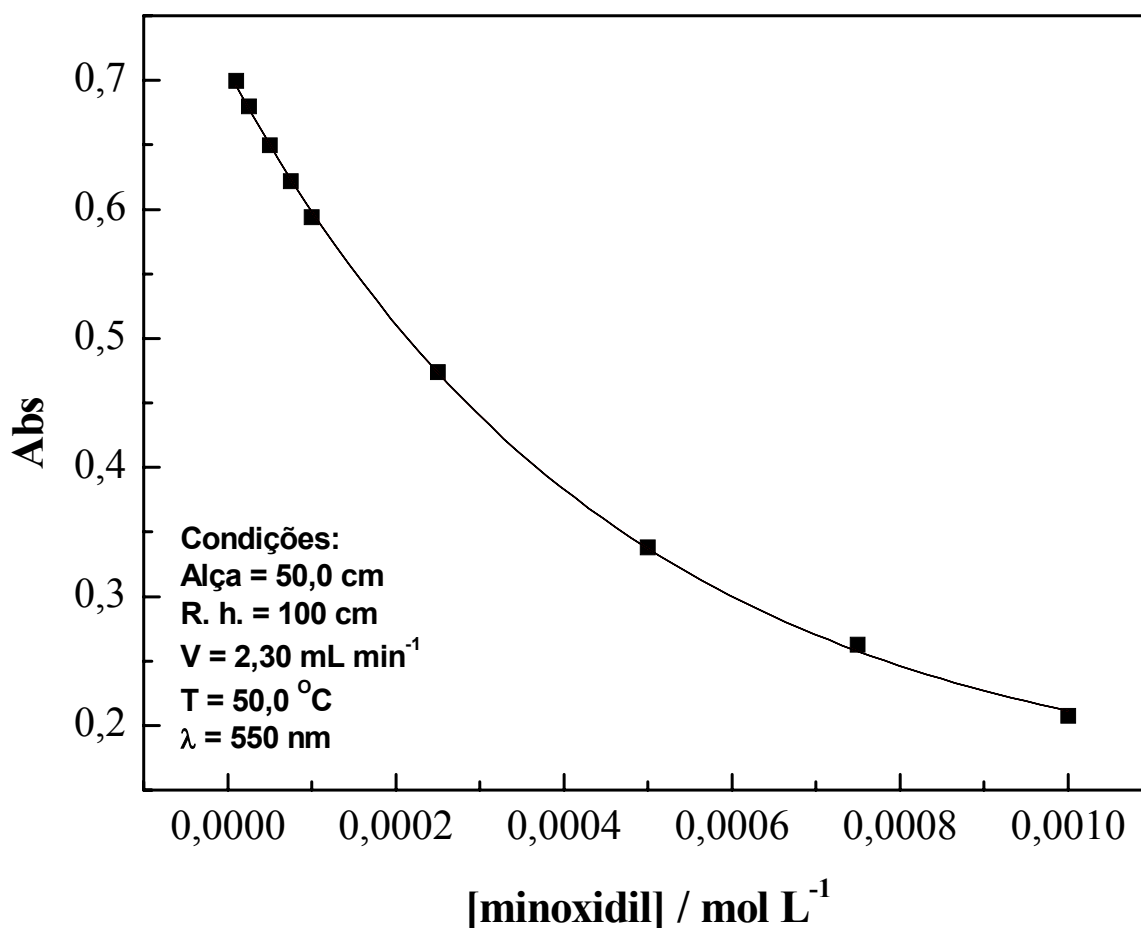
E – [minoxidil] =  $7,50 \times 10^{-5} \text{ mol L}^{-1}$ ;

F – [minoxidil] =  $1,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ ;

G – [minoxidil] =  $2,50 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  e

H – [minoxidil] =  $5,00 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ .

Com os sinais dos decréscimos das absorvâncias da solução carregadora de  $\text{KMnO}_4$  construiu-se a curva analítica apresentada na Figura 19.

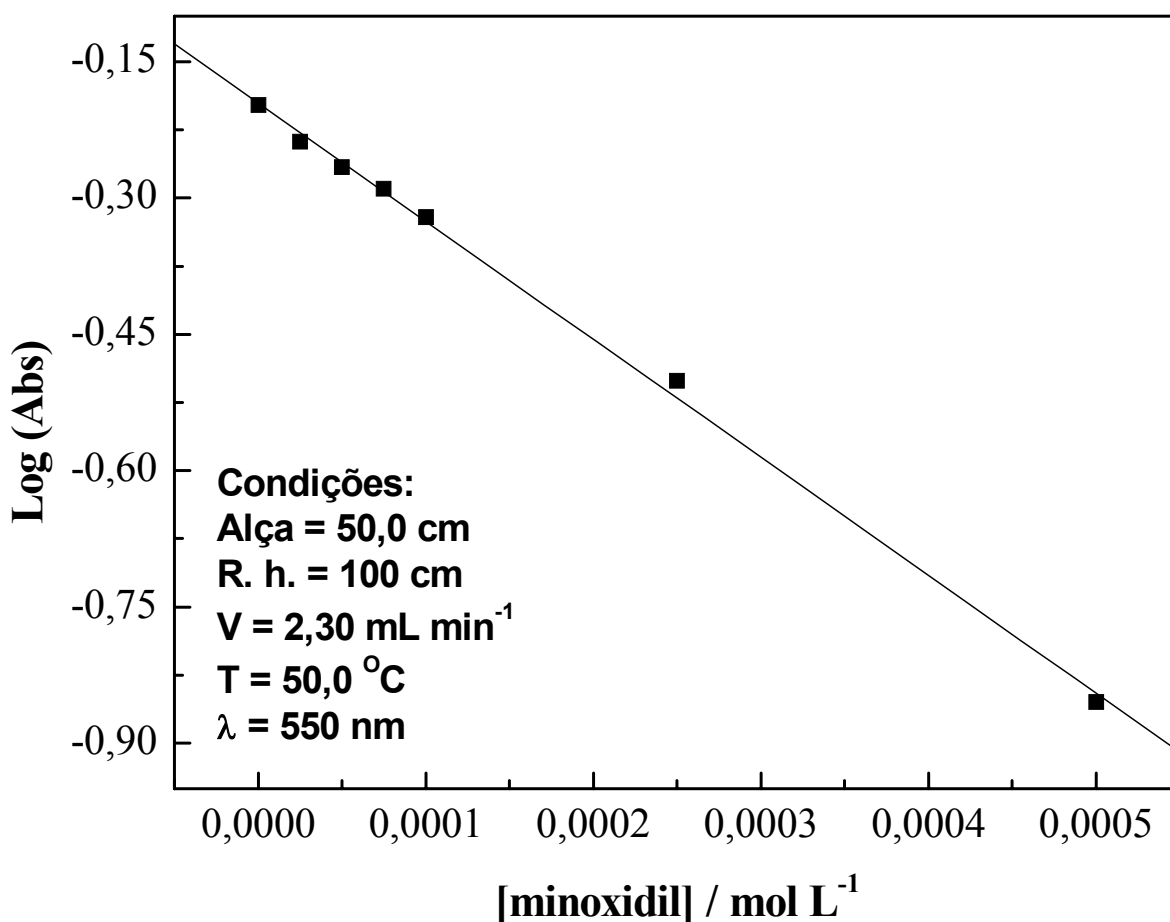


**Figura 19:** Curva analítica com sete concentrações diferentes de minoxidil e o branco. (n = 3 repetições)

É clara a tendência exponencial da curva apresentada na Figura 19 que pode ser confirmado pelo coeficiente de correlação para a curva de decaimento exponencial de primeira ordem que foi igual a -0,9997. Entretanto, ao se aplicar a função logarítmica aos valores de absorvância, obtém-se uma reta com coeficiente de correlação de -0,9990 o qual gera uma equação de primeiro grau apresentada na Equação 24 (Figura 20) [64].

$$\text{Log}(\text{Abs}) = -1,30 \times 10^3 \cdot [\text{minoxidil}] - 0,196 \quad (24)$$





**Figura 20:** Curva analítica com a absorbância logaritimizada.

Substituindo-se os valores dos sinais transientes de absorbância na Equação 24, foi possível calcular as concentrações reais de minoxidil contidas nas amostras comerciais. A Figura 21 apresenta o registro dos sinais transientes de absorbância, fiagramas, para a solução usada como branco, para as sete soluções padrão de concentrações diferentes contendo minoxidil (soluções usadas na construção da curva analítica) e para as soluções contendo as amostras comerciais (*Regaine*<sup>®</sup> e *Neoxidil*<sup>®</sup> ambos do lote B). Foram registradas, na mesma figura, as sinais transientes relativos ao crescimento da concentração de minoxidil partindo do branco até a maior concentrações do analito ( $5,00 \times 10^{-4}$

mol L<sup>-1</sup>). Registraram-se, em seguida, os sinais obtidos das dez injeções da solução preparada a partir da solução tópica da amostra comercial *Regaine*<sup>®</sup>, em seguida injetou-se branco novamente e mais dez injeções da solução preparada a partir da amostra comercial *Neoxidil*<sup>®</sup>. Para finalizar o experimento, registrou-se os sinais relativos ao decréscimo das absorvâncias com relação à diminuição da concentração de minoxidil até o branco partindo da solução mais concentrada (5,00 x 10<sup>-4</sup> mol L<sup>-1</sup>). O limite de detecção foi calculado pela equação 25:

$$\mathbf{LD = 3.S} \quad (25)$$

LD = limite de detecção;

S = Erro do coeficiente angular.

O limite de detecção apresentado pelo método em fluxo proposto foi de 8,92 x 10<sup>-6</sup> mol L<sup>-1</sup> (Figura 25).

O fiagrama da Figura 21 apresenta a ausência do efeito de memória ao se mudar de concentração, mesmo quando se parte de uma concentração maior para uma concentração menor de minoxidil injetada. Com o auxílio da figura pode-se estimar a frequência analítica que foi de 32 determinações por hora.



### 8.3.4. Análise das amostras comerciais

Foram analisadas duas amostras comerciais contendo minoxidil (*Regaine*<sup>®</sup> e *Neoxidil*<sup>®</sup> ambos do lote B) os resultados são apresentados na Tabela 19.

**Tabela 19:** Resultados da análise das amostras

<b>Amostras</b>	<b>Rótulo / mg mL<sup>-1</sup></b>	<b>FIA<sup>a</sup></b>	<b>Comparativo<sup>ab</sup></b>
<i>Neoxidil</i> <sup>®</sup>	20,0	20,9 ± 6 x 10 <sup>-3</sup>	20,8 ± 0,41
<i>Regaine</i> <sup>®</sup>	20,0	21,2 ± 8 x 10 <sup>-3</sup>	20,9 ± 0,54

a – mg mL<sup>-1</sup> ± desvio padrão, n=10

b – Lote B das amostras comerciais

Os erros relativos calculados para o rótulo e ao método comparativo são apresentados na Tabela 20.

**Tabela 20:** Erros relativos ao rótulo e ao método comparativo

<b>Amostras</b>	<b>Erros / %</b>	
	<i>Rótulo</i>	<i>Comparativo</i>
<i>Neoxidil</i> <sup>®</sup>	4,31	0,481
<i>Regaine</i> <sup>®</sup>	6,00	1,44

O resultados do método proposto apresentados na Tabela 19, se mostraram coerentes com os valores rotulados das amostras comerciais e com o método comparativo com ligeiro desvio para o valor rotulado do *Regaine*<sup>®</sup>. Entretanto, há concordância com o método comparativo. Foram calculados os

níveis de confiança em que o método proposto concorda com o valor rotulado das amostras comerciais e com o método comparativo, usando o teste t-Student [43] sendo possível concluir que, o procedimento proposto concorda com o método cromatográfico em 99 % de confiança.

### 8.3.5. *Teste de adição e recuperação*

A exatidão do método proposto foi avaliada pelo teste de adição e recuperação, observando-se recuperação entre 104,7 % para o *Neoxidil*<sup>®</sup> e 106,4 % para o *Regaine*<sup>®</sup> (n = 5), na determinação de minoxidil, em ambas as formulações farmacêuticas. O teste de adição e recuperação obedeceu aos parâmetros otimizados para esse método, adicionou-se quantidade de solução padrão de minoxidil à solução contendo o volume necessário de solução tópica de modo a totalizar  $1,80 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> de padrão e quantidades de solução das amostras suficientes para completar  $2,80 \times 10^{-4}$  mol L<sup>-1</sup> em minoxidil.

## 8.4. *Conclusões*

O uso da análise por injeção em fluxo (FIA) para a determinação de minoxidil em formulações farmacêuticas usando permanganato de potássio como reagente redox apresentou-se como um método exato e preciso. Os valores de concentração de minoxidil obtidos pelo método proposto foram concordantes com o rótulo e com o método comparativo. Portanto conclui-se que o método aqui proposto é eficiente na determinação de minoxidil em amostras comerciais.

## **9. DETERMINAÇÃO TITRIMÉTRICA COM DETECÇÃO POTENCIOMÉTRICA DE MINOXIDIL EM AMOSTRAS COMERCIAIS USANDO DICROMATO DE POTÁSSIO COMO REAGENTE**

### *9.1 Introdução*

A titrimetria com detecção potenciométrica é uma técnica clássica que envolve a reação redox entre o dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ), e o analito a ser investigado. O  $K_2Cr_2O_7$  é padrão primário e sua redução é evidenciada pela mudança de cor, que vai do alaranjado ( $Cr_2O_7^{2-}$ ) ao verde ( $Cr^{3+}$ ). Porém, na maioria dos casos, essa mudança de cor é lenta e sutil, causando erros na determinação visual de ponto final da titulação. Entretanto, usando-se a detecção potenciométrica, os erros no ponto final da titulação são eliminados [31].

### *9.2. Experimental*

#### *9.2.1. Reagentes e equipamentos*

Os reagentes usados para a titrimetria com detecção potenciométrica foram de grau analítico, PA. Prepararam-se as soluções com água bidestilada num destilador de quartzo. As soluções do dicromato de

potássio (Merck) foram preparadas pela dissolução do sal em ácido sulfúrico (Mallinckrodt)  $2,00 \text{ mol L}^{-1}$ . Como descrito anteriormente o minoxidil padrão foi fornecido pela *Natural Pharma Produtos Farmacêuticos Ltda*, lote n<sup>o</sup> 1901.

Para os experimentos foram usados um eletrodo de platina como eletrodo indicador e um eletrodo de calomelano saturado como eletrodo de referência. Para as medidas de potencial foi usado um pHmetro Corning M 425, e as medidas titulométricas ocorreram em uma célula de vidro com capacidade para 25,0 mL de solução. A célula eletroquímica estava acoplada a um banho termostaticado para o controle de temperatura e a solução contida na célula foi agitada com o auxílio de um conjunto agitador / barra magnética. As alíquotas de amostra foram adicionadas a partir de uma bureta de 10,00 mL.

### 9.2.2. Procedimento

Colocou-se na célula contendo o eletrodo de platina, eletrodo de trabalho, e o eletrodo de calomelano saturado, eletrodo de referência, 1,00 mL solução de dicromato de potássio na concentração de  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ , adiciona-se ao dicromato de potássio 9,00 mL de ácido sulfúrico  $2,00 \text{ mol L}^{-1}$ , sob agitação, mantendo-se a temperatura em  $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Adicionou-se alíquotas de 0,500 mL de amostras contendo minoxidil a  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$  em meio ácido a cada três minutos para que o potencial se estabilize e a leitura pudesse ser feita.

### *9.3. Resultados e discussão*

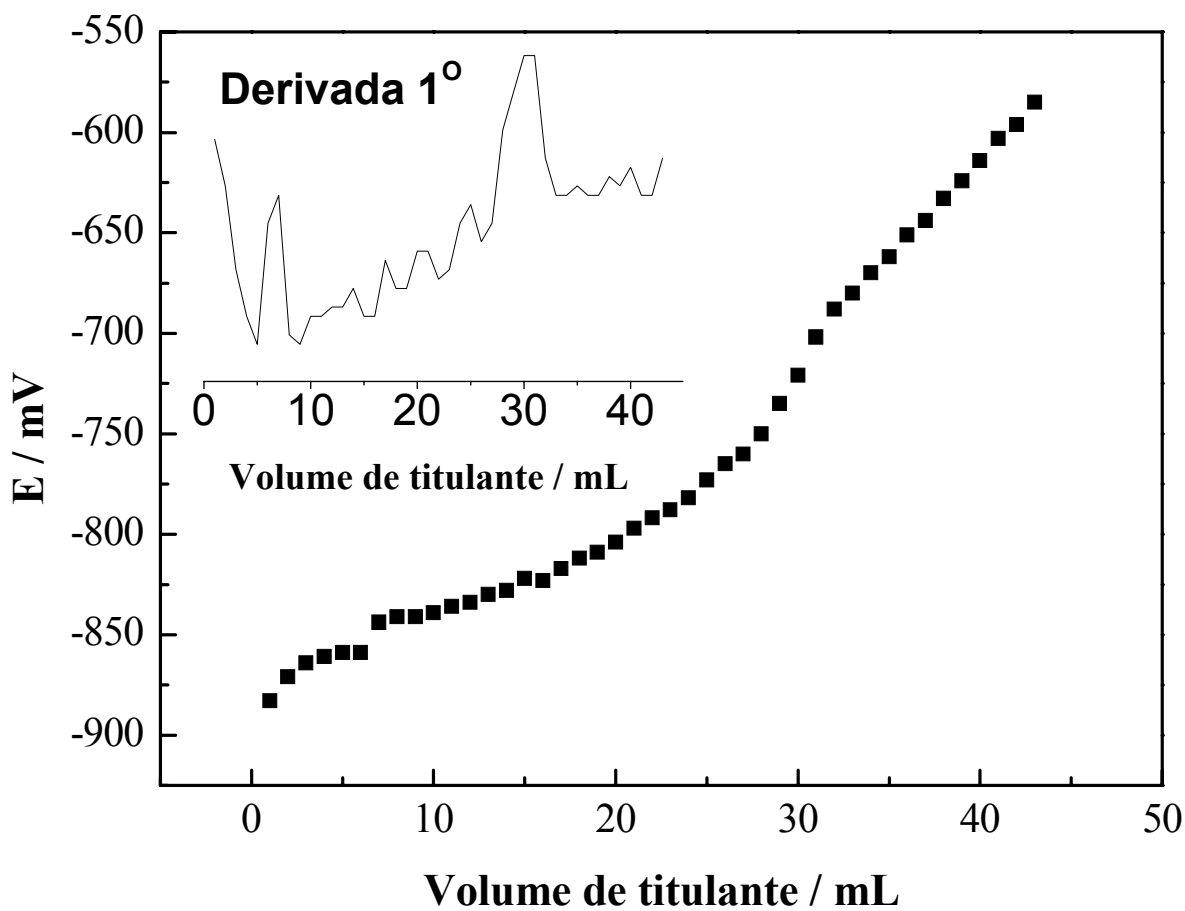
#### *9.3.1. Estudo do efeito da temperatura*

Para a temperatura ambiente, 25 °C, e tempo de estabilização de um minuto não foi possível notar a mudança de cor do dicromato, ou seja, não houve reação entre o minoxidil e o dicromato (Figura 22)

Com o indício de que a reação não ocorria em temperatura ambiente no tempo definido para a estabilização do potencial (Figura 22), estabeleceu-se, então, três minutos para o tempo de estabilização do potencial e efetuou-se um estudo do efeito da temperatura, para isso foram efetuadas titulações em 40, 50, 60 e 70 °C apresentadas na Figura 23.

Baseando-se nos resultados do estudo do efeito da temperatura apresentados na Figura 23, observou-se que os experimentos que apresentaram melhor definição da curva potenciométrica foram as titulações realizadas em 60 e 70 °C (Figura 24). Ao se comparar os perfis das curvas potenciométricas de ambas as titulações e, ainda, comparando-se os pontos finais das mesmas, percebeu-se um melhor perfil da curva potenciométrica da titulação a 60 °C e o ponto de final da mesma apresentou um valor do ponto final mais próximo ao valor do ponto de equivalência calculado previamente, portanto selecionou-se como temperatura de trabalho a temperatura de 60 °C (Tabela 21).





**Figura 22:** Curva potencial em função do volume de minoxidil a 25 °C e adição de 1 minuto para tempo de estabilização e sua derivada 1<sup>o</sup>.

Condições:

[minoxidil] =  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$

[K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] =  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$

Volume de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> = 5,00 mL

[H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] =  $2,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$

Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 5 mL

Temperatura = 25 °C

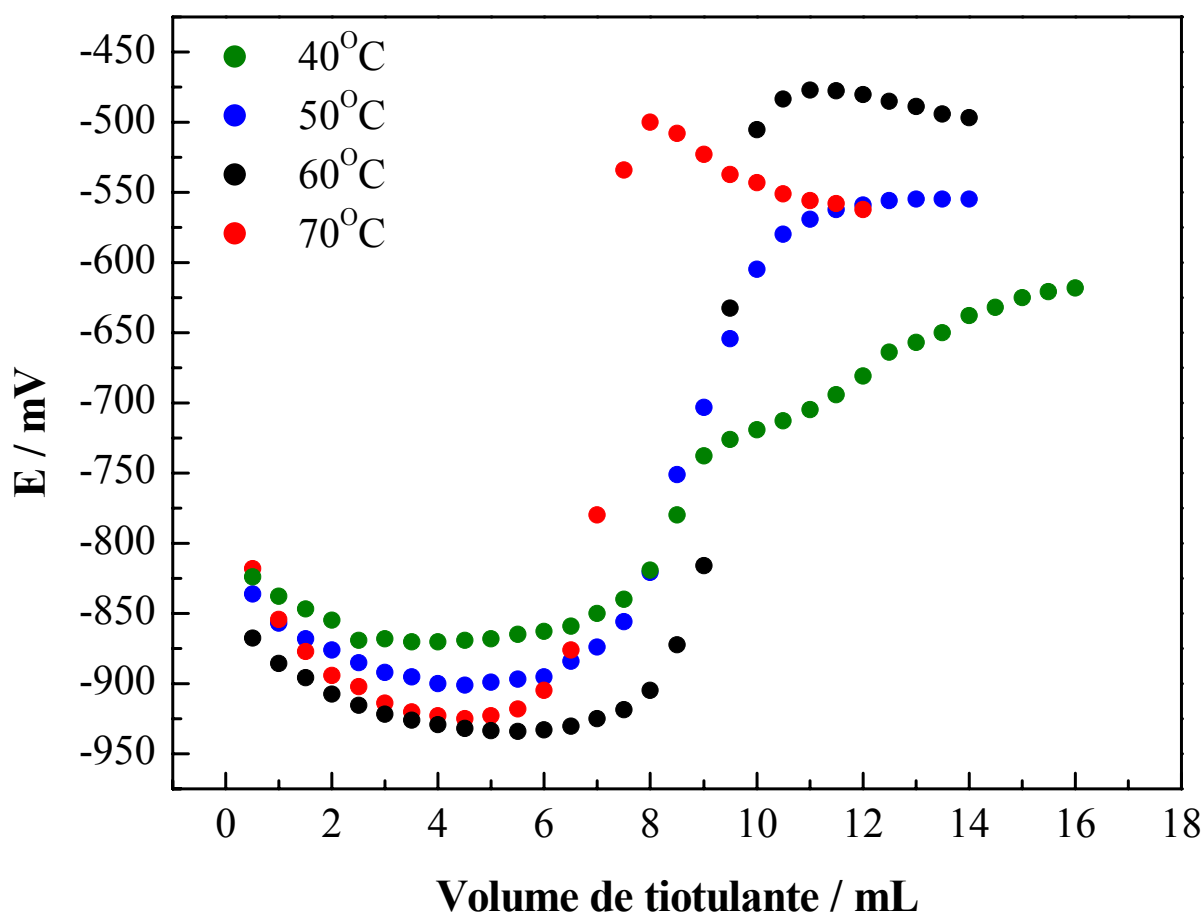
Ponto de equivalência = 15,0 mL

Tempo de estabilização = 1 minuto

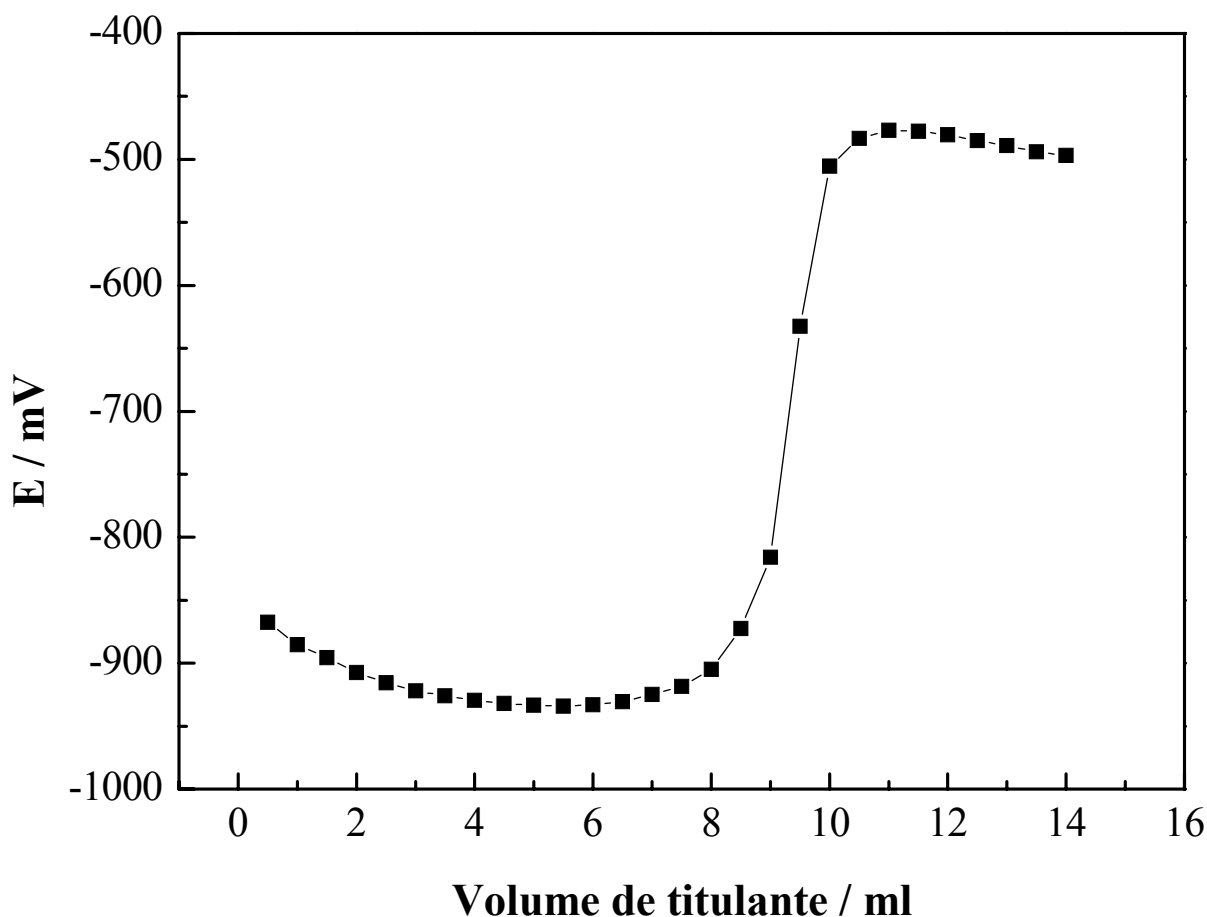
**Tabela 21:** Erros relativos comparados ao rótulo e ao método comparativo

Temperatura / °C	Pto final / mL*	Pto de equivalência / mL*	Erro / %
60	9,46	9,00	5,11
70	7,10	9,00	21,1

\* n = 3 repetições

**Figura 23:** Efeito da temperatura nas titulações potenciométricas de minoxidil com dicromato de potássio.Condições:[minoxidil] =  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ;[K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] =  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ;Volume de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7(aq)</sub> = 3,00 mL ;[H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] =  $2,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ;Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4(aq)</sub> = 5 mL e

Tempo de estabilização = 3 minutos por adição de titulante.



**Figura 24:** Curva do potencial em função do volume de titulante a 60 °C.

Condições:

[minoxidil] =  $1,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>;

[K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] =  $1,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>;

Volume de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> = 3,00 mL ;

[H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] =  $2,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>;

Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 5 mL e

Tempo de estabilização = 3 minutos.

Temperatura = 60 °C

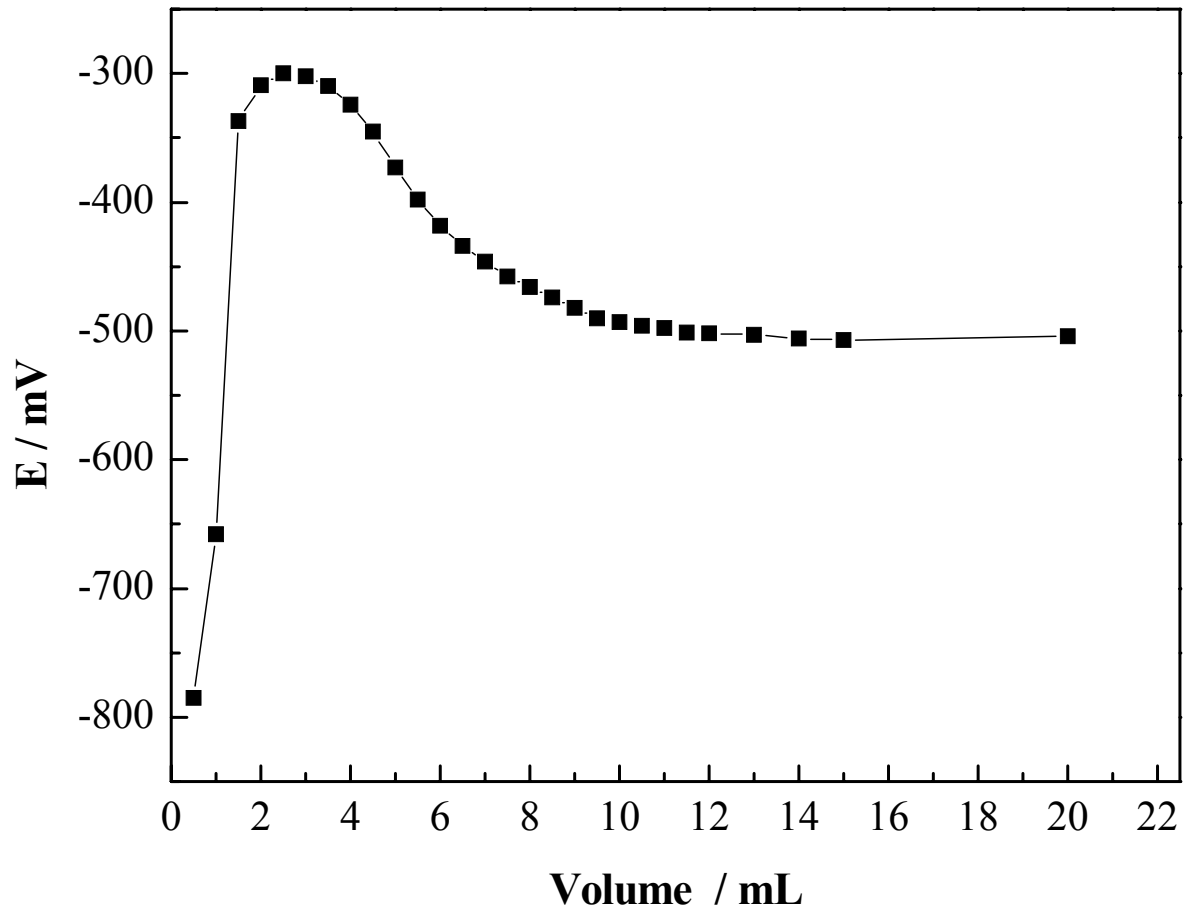
### 9.3.2. Análise das amostras comerciais

Com os parâmetros definidos analisaram-se as amostras comerciais contendo minoxidil (*Regaine*<sup>®</sup> e *Neoxidil*<sup>®</sup> do lote A). Porém, haviam dois interferentes em potencial, o etanol e propileno glicol, sendo que ambos

poderiam ser oxidados pelo dicromato de potássio. Titularam-se as amostras preparando-as pela simples diluição das soluções tóxicas em ácido sulfúrico para atingir a concentração final de  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ . Entretanto, o etanol e propileno glicol usados como veículo nas amostras comerciais foram oxidados consumindo todo o dicromato de potássio. As Figuras 25 e 26 apresentam as curvas potenciométricas para as titulações com o *Regaine*<sup>®</sup> e o *Neoxidil*<sup>®</sup> respectivamente sem a extração do veículo.

Para eliminar a interferência do veículo foi preciso extraí-lo seguindo o seguinte procedimento:

- Inicialmente, extraiu-se o máximo de etanol contido em um volume conhecido de amostra com auxílio de um evaporador rotatório a  $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$  com pressão reduzida. Nessa etapa, o propilenoglicol não é eliminado, devido a seu ponto de ebulição ser maior que o do etanol, a amostra não é seca completamente, formou-se uma mistura viscosa de minoxidil e propilenoglicol;
- Adicionou-se acetona à mistura viscosa para a precipitação do minoxidil;
- O minoxidil foi separado por filtração a vácuo, utilizando-se um funil de uma placa sinterizada;
- Secou-se o precipitado em estufa a aproximadamente  $60 \text{ }^{\circ}\text{C}$  por 30 minutos;
- O precipitado seco foi diluído em ácido sulfúrico  $2,00 \text{ mol L}^{-1}$ , obtendo-se a solução de trabalho.



**Figura 25:** Curva potenciométrica para *Regaine*<sup>®</sup> sem a extração do veículo.

Condições:

[minoxidil] =  $1,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>;

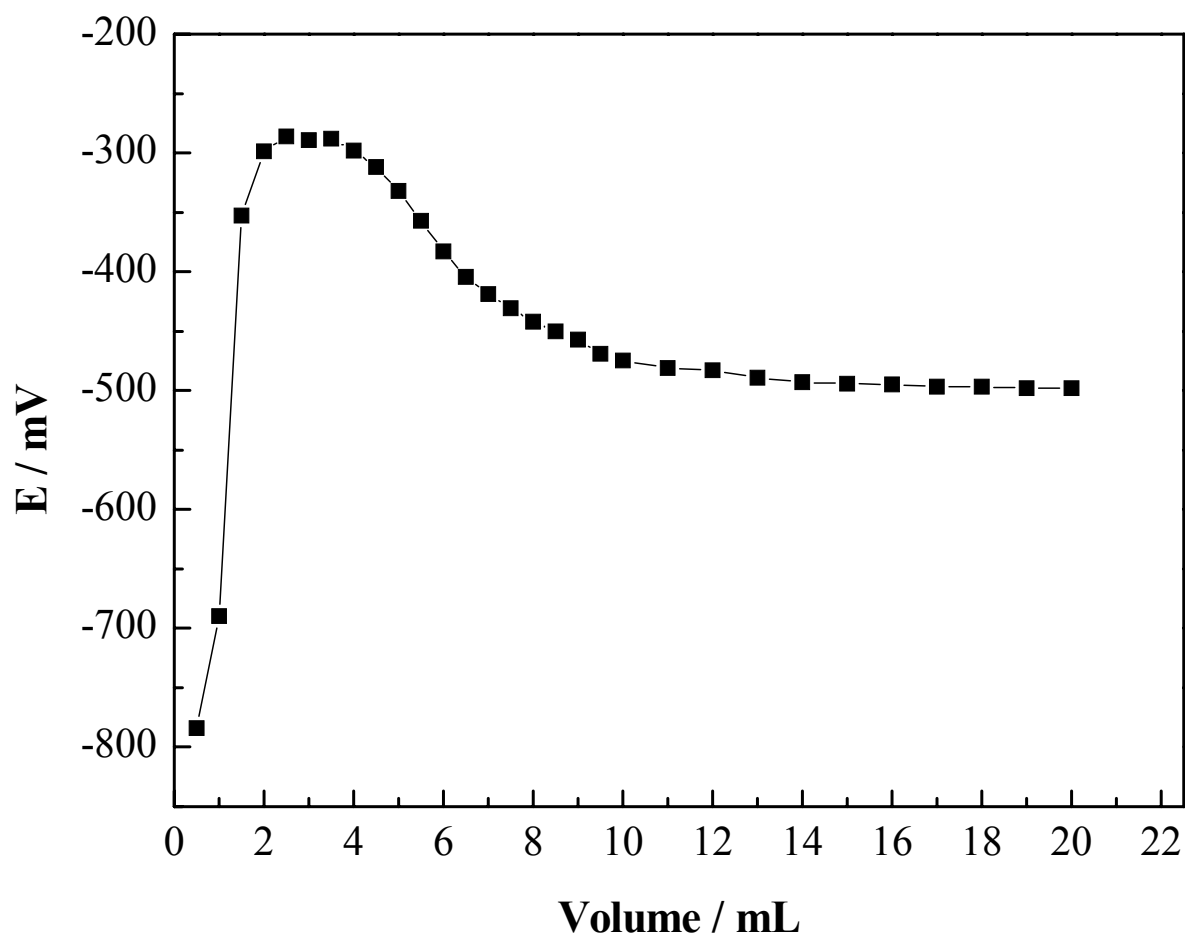
[K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] =  $1,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>;

Volume de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> = 2,00 mL ;

Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 5 mL e

Tempo de estabilização = 3 minutos.

Temperatura de trabalho = 60 °C



**Figura 26:** Curva potenciométrica para *Neoxidil*<sup>®</sup> sem a extração do veículo

Condições:

[minoxidil] =  $1,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>;

[K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] =  $1,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>;

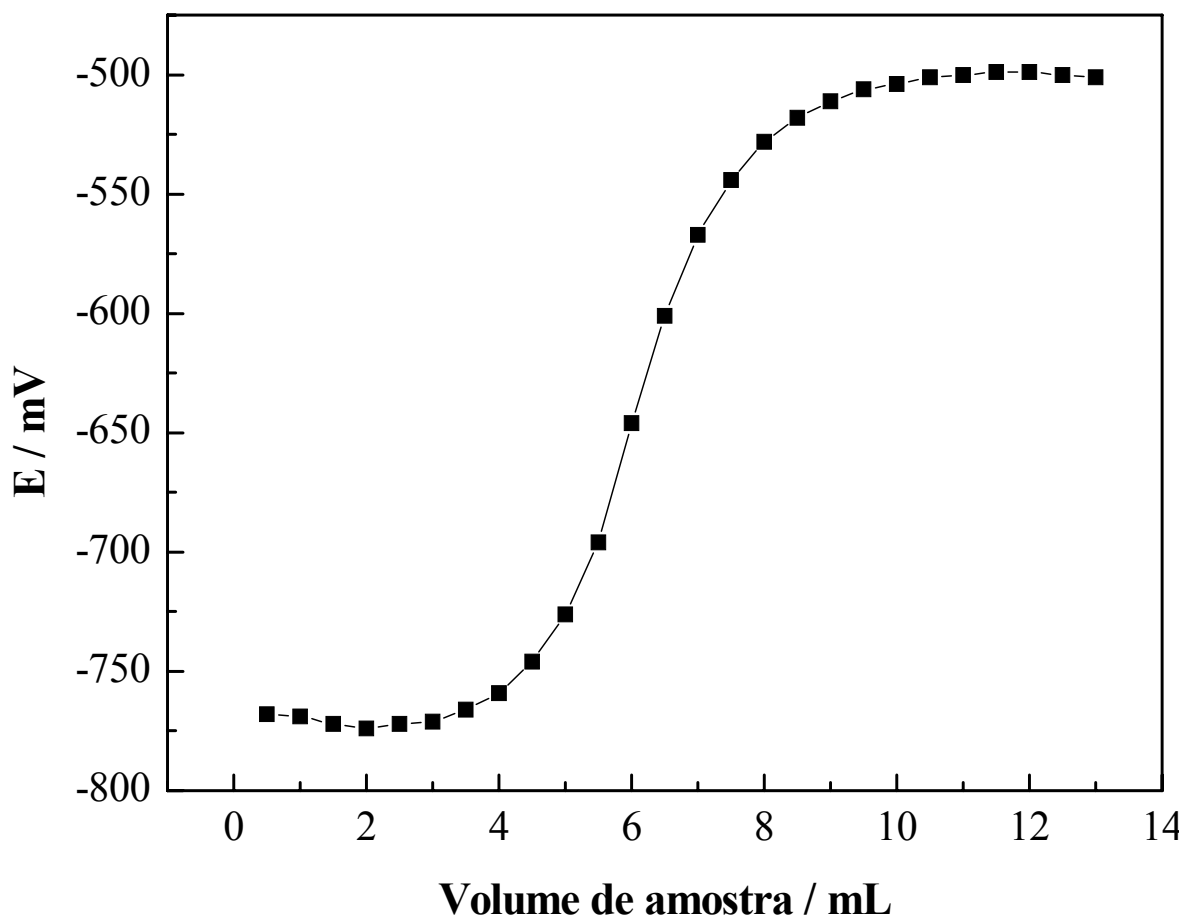
Volume de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> = 2,00 mL ;

Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 5 mL e

Tempo de estabilização = 3 minutos.

Temperatura de trabalho = 60 °C

Após a extração do veículo foram efetuadas a titulações com as amostras comerciais resultando nas curvas potenciométricas das Figuras 27 e 28 para o *Regaine*<sup>®</sup> e o *Neoxidil*<sup>®</sup>, respectivamente, após extração do veículo.



**Figura 27:** Curva potenciométrica para *Regaine*<sup>®</sup> com o veículo extraído.

Condições:

[minoxidil] =  $1,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>;

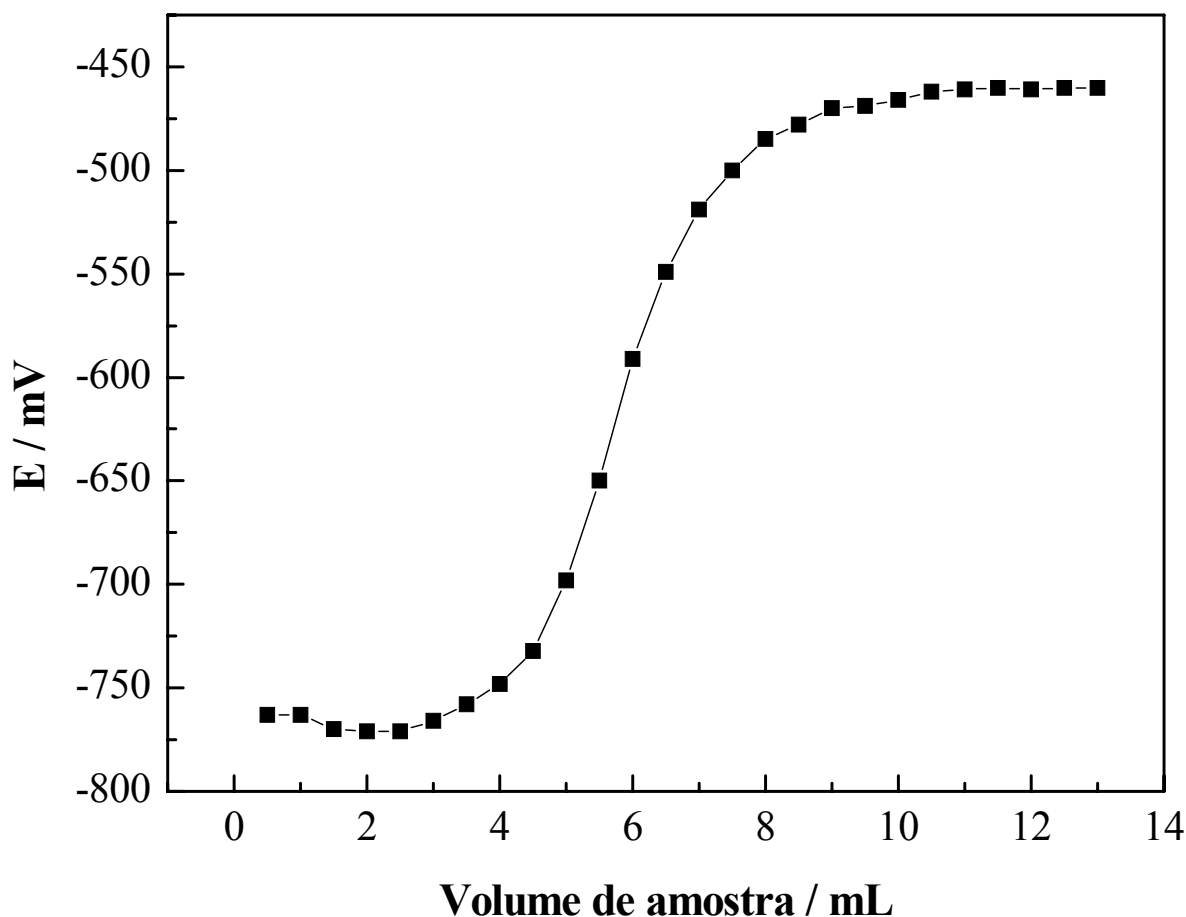
[K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>] =  $1,00 \times 10^{-2}$  mol L<sup>-1</sup>;

Volume de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> = 2,00 mL ;

Volume de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> = 5 mL e

Tempo de estabilização = 3 minutos.

Temperatura de trabalho = 60 °C



**Figura 28:** Curva potenciométrica para *Neoxidil*<sup>®</sup> com o veículo extraído.

Condições:

[minoxidil] =  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ;

[ $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ ] =  $1,00 \times 10^{-2} \text{ mol L}^{-1}$ ;

Volume de  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  = 2,00 mL ;

Volume de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  = 5,00 mL e

Tempo de estabilização = 3 minutos.

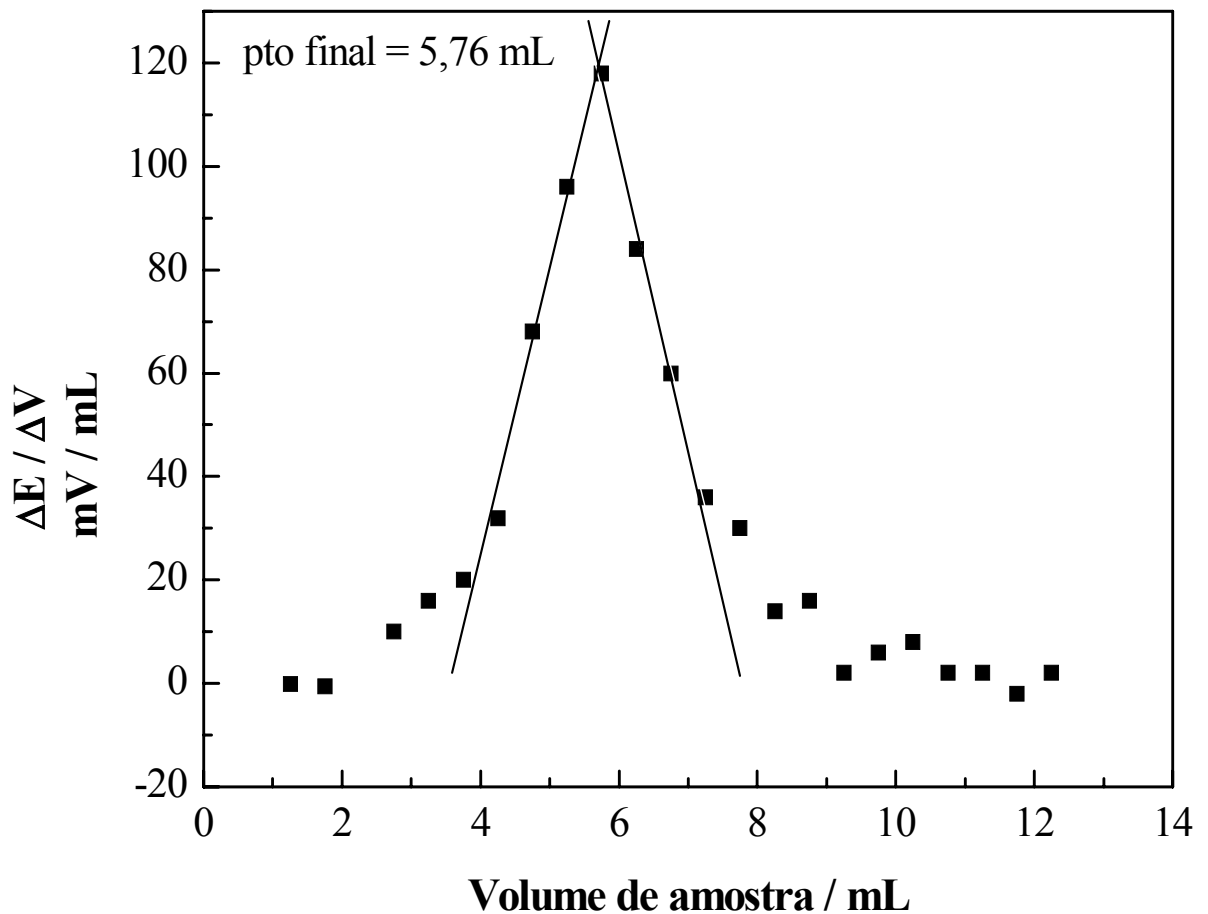
Temperatura de trabalho =  $60 \text{ }^\circ\text{C}$

Com a extração do veículo os perfis das curvas potenciométricas das amostras comerciais são semelhantes aos perfis das curvas potenciométricas obtidas para as soluções padrão.

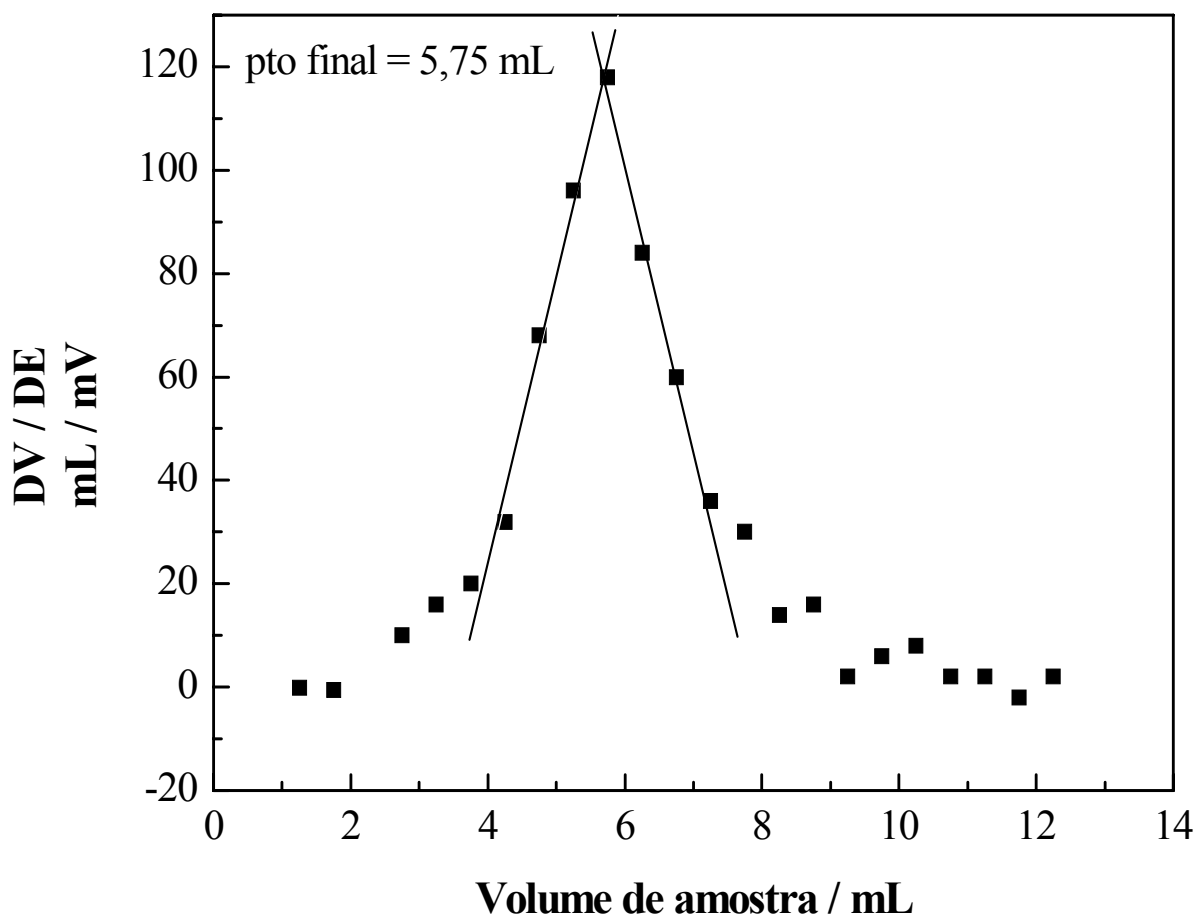
Para a identificação do ponto final da titulação potenciométrica foi utilizada a curva de Gran [33] que consiste num gráfico de  $\Delta E / \Delta V$  em função



do volume de amostra adicionado, no qual a intersecção entre as duas tendências de reta indica o ponto final da titulação com mais precisão que se fosse utilizado o método da derivada. As Figuras 29 e 30 apresentam as curvas de Gran para o *Regaine*<sup>®</sup> e o *Neoxidil*<sup>®</sup> respectivamente.



**Figura 29:** Curva de Gran do *Regaine*<sup>®</sup> com ponto final da titulação em 5,76 mL (resultados da Figura 27) [33].



**Figura 30:** Curva de Gran do *Neoxidil*<sup>®</sup> com ponto final da titulação em 5,75 mL (resultados da Figura 28) [33].

Com os pontos finais das titulações potenciométricas das amostras comerciais pode-se encontrar as concentrações de minoxidil contidas nas formulações. A relação entre os reagentes foi de 3 de minoxidil para 1 de dicromato de potássio. Os resultados obtidos na titulação são apresentados na Tabela 22.

**Tabela 22:** Resultados obtidos na titulação potenciométrica

<b>Amostra</b>	<b>Rótulo <sup>a</sup></b>	<b>Titulação <sup>bc</sup></b>	<b>Comparativo( lote A) <sup>b</sup></b>
<i>Neoxidil</i> <sup>®</sup>	20,0	20,7 ± 0,20	19,4 ± 0,41
<i>Regaine</i> <sup>®</sup>	20,0	21,0 ± 0,30	20,9 ± 0,47

a – valores dados em mg mL<sup>-1</sup>

b – concentração de minoxidil ± desvio padrão

c – 3 repetições

Os erros relativos ao rótulo e ao método comparativo são apresentados na Tabela 23.

**Tabela 23:** Erros relativos ao rótulo e ao método comparativo

<b>Amostra</b>	<b>Erro relativo / %</b>	
	<i>Rótulo</i>	<i>Comparativo</i>
<i>Neoxidil</i> <sup>®</sup>	+3,72	+6,70
<i>Regaine</i> <sup>®</sup>	+4,71	+0,479

Os valores para a concentração de minoxidil contido nas amostras se apresentaram concordantes com os valores apresentados no rótulo e os valores encontrados pelo método comparativo. Tal concordância foi estabelecida a partir dos níveis de confiança, usando o teste t-Student [43], em que o método proposto concorda em 90 %, com o valor rotulado das amostras comerciais e com os valores obtidos pelo método comparativo.

### 9.3.3. teste de adição e recuperação

Foi avaliada a exatidão do método proposto pelo teste de adição e recuperação, observando-se recuperação entre 98,7 % para o *Neoxidil*<sup>®</sup> e 97,4 % para o *Regaine*<sup>®</sup> (n = 3), na determinação de minoxidil, em ambas as amostras comerciais. O teste de adição e recuperação obedeceu aos parâmetros otimizados para esse método, adicionou-se quantidade de solução padrão de minoxidil à solução contendo o volume necessário de solução tópica de modo a totalizar  $0,500 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  de padrão e quantidades de solução das amostras suficientes para completar  $1,25 \times 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$  em minoxidil.

### 9.4. Conclusões

A determinação titrimétrica com detecção potenciométrica de minoxidil em amostras comerciais usando dicromato de potássio como titulante, apresentou-se como um método exato e de baixo custo, porém o tempo de cada titulação é alto e, também, a preparação das amostras comerciais para isentá-las do veículo torna mais lento ainda as análises. Os valores de concentração de minoxidil obtidos pelo método proposto foram concordantes com o rótulo e com o método comparativo, concluindo-se então, que o método aqui proposto é eficiente na determinação de minoxidil em amostras comerciais.

## **10. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS**

Os resultados obtidos sugerem que os métodos propostos neste trabalho foram eficazes na determinação de minoxidil em amostras comerciais, considerando-se os limites, erros e limitações inerentes a cada técnica. Os capítulos 6, 7 e 9 descrevem procedimentos analíticos clássicos, que podem ser úteis na determinação de minoxidil em amostras comerciais.

O capítulo 8 emprega um procedimento em fluxo para determinação do analito, em um método automatizado que permite a determinação do analito com maior frequência analítica e minimização dos problemas de preparo e injeção de amostras, característicos deste tipo de aplicação.

Comparando-se os métodos e levando em consideração os equipamentos utilizados, sensibilidade e resíduos gerados, pode-se afirmar que o procedimento em fluxo se apresentou mais eficaz com relação a sensibilidade e geração de resíduos. Entretanto com o aumento das farmácias de manipulação um procedimento simples e barato para o controle de qualidade seria a “Determinação titrimétrica de minoxidil em formulações farmacêuticas usando permanganato de potássio”, mesmo sendo limitado com relação a sensibilidade,

as amostras a serem analisadas apresentam uma concentração conhecida de fármaco.

### *Perspectivas de trabalhos futuros*

- A elucidação da estrutura do produto de oxidação do minoxidil,
- A determinação do minoxidil em matrizes mais complexas, como urina e plasma sanguíneo,
- Determinação de minoxidil em fluxo após preparação de sais de diazônio, com detecção espectrofotométrica, visando maior sensibilidade,
- Estudos termoanáliticos do analito, visando caracterizá-lo do ponto de vista térmico.

Até este momento entende-se que o trabalho é uma contribuição para a determinação deste analito, para o qual existem poucas alternativas analíticas além dos procedimentos cromatográficos.

## 11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] S. S. Budavari, M.J. O'Neil, A. Smith, P.E. Heckelman, J.F. Kinneary, **The Merck Index**, 13<sup>th</sup>, Merck & Company Incorporated, Whitehouse Station, New Jersey, 2001, 6229p.
- [2] Medina, A. R. *et al.* Integrated flow injection-solid phase spectrophotometric determination of minoxidil, **Talanta**, v. 50, n. 2, p 277, 1999.
- [3] Han, J. H. *et al.* Expression of androgen receptor, estrogen receptor alpha and beta in the dermal papilla of human hair follicles in vivo, **J. Dermatol. Science**, v. 36, n. 3, p 176, 2004.
- [4] Nobre, F.; Lima, N.K.C. **Hipertensão arterial: conceito , classificação e critérios diagnósticos.** *in* manual de cardiologia SOCESP, Atheneu, São Paulo, 2000.
- [5] Mano, R. **Manual de hipertensão arterial.** Mano, Ladário, 2002
- [6] Hipertension Arterial. Disponível em:  
**<http://www.tuotromedico.com/temas/hipertension.htm>**, Acesso em 02 abril de 2005
- [7] Kapln, N.M. Systemic hypertension: mechanism and diagnosis. ***In Heart disease.*** BRANWALD, E.; Zipes, D.P.; Libby, P (eds.). 6<sup>th</sup>. Ed., saunders, Philadelphia, 2001.
- [8] Latufo, P.A.; Lolio, C.A. **Epidemiologia da Hipertensão Arterial no Brasil.** *In* SOCESP Cardiologia, Vol. 2, Atheneu, São Paulo, 1996.
- [9] **Sexto Relatório internacional do Joint Commettee (VI JOINT)**, 1997
- [10] Appel, L.J. **The role diet in the prevention and treatment of hypertension.** *Curr. Atheroscler. REP.* **2**: 521, 2000

- [11] Olsen, E.A. *et al.* Alopecia areata investigational assessment guidelines Part II, **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 51, n. 3, p. 441, 2004.
- [12] Lenane, P. *et al.* Congenital alopecia areata, **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 52, n. 2, p. 8, 2005.
- [13] Sinclair, R.D.; Dawber, R.P.R. Androgenetic Alopecia in Men and Women, **J. Am. Acad. Dermatol.**, v. 48, n. 1, p. 8, 2004.
- [14] Trüeb, R.M. Molecular mechanisms of androgenetic alopecia, (Mini-Review), **Experimental Gerontology**, v. 37, p. 981, 2002.
- [15] Jeffery, G.H.; Bassett, J.; Mendham, J.; Denney, R.C.; **Vogel.Analise Química Quantitativa**. quinta edição; 168; LTC Ltda.; 1992.
- [16] AOAC International, **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 16<sup>a</sup> ed.. AOAC International: Gaithersburg, 1997
- [17] Terra, J.; Rossi, A. V. Sobre o desenvolvimento da análise volumétrica e algumas aplicações atuais, **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p. 166, 2005.
- [18] Jeffery, G.H.; Bassett, J.; Mendham, J.; Denney, R.C. **Vogel. Analise Química Quantitativa**, quinta edição, p. 260, LTC Ltda, 1992.
- [19] W. Misiuk, H., Puzanowska-Tarasiewics, H. Spectrophotometric determination of some antidepressant drugs, **Analytical Letters**, v 35, n. 7, p. 1163, 2002.
- [20] Jeffery, G.H.; Bassett, J.; Mendham, J.; Denney, R.C. **Vogel.Analise Química Qualitativa**, quinta edição; 396, LTC Ltda, 1992.
- [21] Jeffery, G.H.; Bassett, J.; Mendham, J.; Denney, R.C. **Vogel. Análise Química Quantitativa**, quinta edição, p. 268, LTC Ltda, 1992
- [22] Skoog, D.A.; Holler, F.J.; Nieman, T.A., **Análise Instrumental**, quinta edição, p. 315, Artmed editora S.A. 2002



- [23] Willard, H.H.; Merrit, Jr. L. L.; Dean, J. A.; Sette, Jr. F. A. **Instrumental Methods of Analysis**. Wadsworth publishing company. Belmont, California, 7<sup>th</sup> edition, 1981.
- [24] Skoog, D.A.; Holler, F.J.; Nieman, T.A. **Princípios de Análise Instrumental**, quinta edição, p. 333, Artmed editora S.A. 2002
- [25] Jeffery, G.H.; Bassett, J.; Mendham, J.; Denney, R.C. **Vogel. Análise Química Quantitativa**, quinta edição, p. 333 LTC, 1992.
- [26] W. Atkins & L.L. Jones, **Princípios de Química**, p. 333, Artmed editora S.A. 2001.
- [27] Underwood, A.L. Photometric titrations, **J. Chem. Educ.**, v. 31, p. 394, 1954.
- [28] Amdur, S.; Levene, W.J. Spectrophotometric titrations for students. **J. Chem. Educ.**, v. 51, p. 136, 1974.
- [29] Jeffery, G.H.; Bassett, J.; Mendham, J.; Denney, R.C.; Vogel. **Análise Química Quantitativa**, quinta edição, p. 570 LTC, 1992.
- [30] R. M. Dyson, *et al.* Stability investigations of medically relevant complexes by the simultaneous analysis of series of spectrophotometric titrations. **Polyhedron**, v. 18, n. 25, p. 3243, 1999.
- [31] Skoog, D.A.; Holler, F.J.; Nieman, T.A. **Princípios de Análise Instrumental**, quinta edição, p. 548, Artmed editora S.A, 2002.
- [32] Jeffery, G.H.; Bassett, J.; Mendham, J.; Denney, R.C. **Vogel. Análise Química Quantitativa**, quinta edição, p. 436, LTC, 1992.
- [33] Gran, G. Determination of the equivalent point in potentiometric titrations. **Acta Chemica Scandinavica**. v. 4, p. 559, 1950.
- [34] Semaan S.F., *et al.* Flow injection spectrophotometric determination of furosemide in pharmaceuticals by the bleaching of a permanganate carrier solution. **Journal of Flow Injection Analysis**, v. 22, n. 1, p. 34, 2005.

- [35] Ruzicka, J.; Hansen, E. H. Flow injection analyses .1. new concept of fast continuous-flow analysis. **Anal. Chim. Acta**, v 78, p. 145, 1975.
- [36] Ruzicka, J.; Hansen, E. H. The 1<sup>st</sup> decade of flow-injection analysis - from serial assay to diagnostic-tool. **Anal. Chim. Acta**, v. 179, p. 1, 1986.
- [37] Ruzicka, J.; Hansen, E. H. Stopped flow and merging zones - new approach to enzymatic assay by flow injection analysis. **Anal. Chim. Acta**, v. 106, p. 207 1979.
- [38] Karlberg, B.; Pacey, G.E. Flow Injection Analysis: A Practical Guide. **Elsevier**, Amsterdam, 1989.
- [39] Zhong, W. Z. *et l*, Quantitative analysis quantitation of 2-n-nonyl-1,3-dioxolane by stable-isotope dilution gas chromatography mass spectrometry. **J. Chromatogr. B**, v. 705, p. 39, 1998.
- [40] Zhong, W. Z. J. *et al*. Application of solid-phase extraction in the method development for determination of SEPA, an acronym for soft enhancement of percutaneous absorption, in human, rat, and rabbit serum using GC-FID method. **Pharm. Biomed. Anal.**, v. 16, p. 1179, 1998.
- [41] Amankwa, L. *et al*. Eletrochemical studies on minoxidil and determinationin tablets by differential-pulse polarography. **Analyst**, v. 108, p. 1221, 1983.
- [42] Zarghi, A. *et al*. HPLC determintion of the tretonoin-minoxidilsolution **Pharm. Acta Helvet.**, v. 73, p. 163, 1998.
- [43] Harris, D.C. **Análise Química Quantitativa**, quinta edição, p. 61, LTC – Livros técnicos e Científicos Editora AS, 2001.
- [44] Fanali, S. *et al*. Determination of minoxidil in pharmaceutical forms by capillary isotachophoresis. **J. Chromatogr. A**, v. 405, p. 385, 1987.
- [45] Carrum, G. *etal*. Minoxidil analysis in human-plasma using high-performance liquid-chromatography with electrochemical detection -

- application to pharmacokinetic studies. **J. Chromatogr. B**, v. 381, p. 127, 1986.
- [46] Zarghi, A. *et al.* Rapid determination of minoxidil in human plasma using ion-pair HPLC. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 36, p. 377, 2004.
- [47] Soares, M.H.F.B. Obtenção e aplicação didática de pigmentos de espécies vegetais: equilíbrio químico e análise instrumental, São Carlos, 2001. Dissertação (Mestrado no Programa de Pós Graduação em Química), Departamento de Química, Universidade Federal de São Carlos.
- [48] Geissman, T. A Flower coloration. **J. Chem. Educ.** v. 18, p. 108, 1941.
- [49] Mebane, R.C.; Rybolt, T.R. Edible acid-base indicators. **J. Chem. Educ.** v. 62, p. 285, 1985.
- [50] Sommer, L. **Analytical absorption spectrophotometry in the visible and ultraviolet – The Principles**. Elsevier, Budapeste, 311, 1989.
- [51] D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Hooler, Fundamentals of Analytical Chemistry, sétima edição, 581, Saunders College Publishing, Philadelphia, 1996.
- [52] Liang, Z. *et al.* Development and validation of a photometric titration method for the quantitation of sodium chondroitin sulfate (bovine) in Cosequin DS chewable tablet. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 28, n. 2, p. 245, 2002.
- [53] Fletcher, P. J.; Van-Staden, J. F. “Determination of carbonate and hydrogencarbonate by titration using sequential injection analysis”. *Anal. Chimica Acta*, **485**: 187, 2003.
- [54] Honorato, R. S. *et al.* Prior assay as an approach to flow titrations. Spectrophotometric determination of iron in alloys and ores. **Anal. Chim. Acta**, v. 416, p. 231, 2000.

- [55] Masadome, T. Determination of cationic polyelectrolytes using a photometric titration with crystal violet as a color indicator. **Talanta**, v. 59, p. 659, 2003.
- [56] Christian, G.D. **Analytical Chemistry**, 5<sup>th</sup> edn, p. 365, Wiley & Sons, New York, 1994.
- [57] D. C. Harris, **Análise Química Quantitativa**, 5<sup>th</sup> edn, p. 130, LTC, Rio de Janeiro, 2001.
- [58] W. Atkins & L.L. Jones, **Princípios de Química**, Artmed editora S.A, Porto Alegre, 2001.
- [59] Nóbrega, J. A., *et al.* Reaction kinetics in a flow-injection spectrophotometric experiment. **J. Chem. Educ.**, v. 68, n. 11, p. 966, 1991
- [60] Nóbrega, J. A.; Rocha, F. R. P. Ionic strength effect on the rate of reduction of hexacyanoferrate(III) by ascorbic acid. **J. Chem. Educ.**, v. 74, n. 5, p. 560, 1997.
- [61] Zagatto, E. A. G. Classificação e definição dos métodos de análises em fluxo (Recomendações - IUPAC 1994). **Quím. Nova**, v. 22, p. 143, 1999.
- [62] Reis, B. F., *et al.* A análise por injeção em fluxo contínuo. **Química Nova**, v. 12, n. 1, p. 82, 1989.
- [63] Reis, B. F. Análise por injeção em fluxo: Vinte anos de desenvolvimento. **Química Nova**, v. 19, n. 1, p. 51, 1996.
- [64] Rocha, F. R. P., *et al.* Experimentos didáticos utilizando sistema de análise por injeção em fluxo. **Química Nova**, v. 23, n. 1, p. 119, 2000.
- [65] Semaan, F.S., *et al.* Optimization of sample preparation using statical methods: spectrophotometric determination of Fe and Co in pharmaceutical samples. **Microchemical Acta**, v. 78, n. 2, p. 187, 2004.