

Artigo

Determinação Espectrofotométrica de Azitromicina em Formulações Farmacêuticas Empregando a Reação com Alizarina

de Paula, C. E. R.;* Almeida, V. G. K.; Borges, R. M.; Cassella, R. J.

Rev. Virtual Quim., 2019, 11 (4), 1081-1096. Data de publicação na Web: 26 de agosto de 2019

<http://rvq.sbq.org.br>

Spectrophotometric Determination of Azithromycin in Pharmaceutical Formulations Employing the Reaction with Alizarin

Abstract: In this work, a spectrophotometric method was developed for the quantification of azithromycin (AZ) in pharmaceutical formulations using a flow injection analysis system (FIA). The method was based on the acid-base reaction of azithromycin with alizarin (ALZ) in aqueous medium. The substance formed was measured spectrophotometrically at 525 nm. After the optimization of the physical and chemical variables, the Lambert Beer's law was obeyed in the concentration range of 8-40 mg L⁻¹ and 4-20 mg L⁻¹, for the method with and without the FIA system, respectively, The molar absorptivity of the substance measured was 3.06 x 10³ L mol⁻¹ cm⁻¹. The two quantification strategies were applied for the determination of azithromycin in pharmaceutical formulations and the obtained results were statistically equivalent.

Keywords: Azithromycin; spectrophotometry; alizarin.

Resumo

Neste trabalho foi desenvolvido um método espectrofotométrico para quantificação de azitromicina em formulações farmacêuticas empregando um sistema de análise por injeção em fluxo (FIA). O método baseou-se na reação ácido-base da azitromicina (AZ) com a alizarina (ALZ) em meio aquoso. A substância formada foi medida espectrofotometricamente em 525 nm. Após a otimização das variáveis físicas e químicas, a lei de Lambert Beer's foi obedecida no intervalo de concentração 8-40 mg L⁻¹ e 4-20 mg L⁻¹, para o método com e sem o acoplamento com o sistema FIA, respectivamente. A absorvidade molar da substância medida foi de 3,06 x 10³ L mol⁻¹ cm⁻¹. As duas estratégias de quantificação foram aplicadas para determinação de azitromicina em formulações farmacêuticas e os resultados obtidos foram estatisticamente equivalentes.

Palavras-chave: Azitromicina; espectrofotometria; alizarina.

* Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Campus Cidade Universitária, CEP 21941-909, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

✉ carlosdepaula@iq.ufrj.br

DOI: [10.21577/1984-6835.20190074](https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190074)

Determinação Espectrofotométrica de Azitromicina em Formulações Farmacêuticas Empregando a Reação com Alizarina

Carlos Eduardo R. de Paula,^{a,*} Vanessa G. K. Almeida,^b Renato M. Borges,^c Ricardo J. Cassella^c

^a Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Campus Cidade Universitária, CEP 21941-909, Rio de Janeiro-RJ, Brasil.

^b Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Instituto de Ciências Exatas, Departamento de Química, Campus Seropédica, CEP 23890-000, Seropédica-RJ, Brasil.

^c Universidade Federal Fluminense, Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, Campus Valongunho, CEP 24020-150, Niterói RJ, Brasil.

* carlosdepaula@iq.ufrj.br

Recebido em 15 de dezembro de 2017. Aceito para publicação em 20 de julho de 2019

1. Introdução

2. Experimental

2.1. Equipamentos

2.2. Materiais e reagentes

2.3. Preparação das amostras

3. Resultado e Discussão

3.1. Efeito do solvente

3.2. Efeito da concentração de alizarina

3.3. Avaliação da estequiometria da reação

3.4. Cálculo da absorvidade molar aparente e da constante de associação

3.5. Caracterização da reação

3.6. Efeito das variáveis relacionadas ao sistema FIA

3.7. Parâmetros analíticos do método

4. Aplicação da Metodologia

5. Conclusão

1. Introdução

Os antibióticos são substâncias químicas específicas de origem natural, semissintética ou sintética capazes de inibir a proliferação ou causar a morte de bactérias. Os principais

antibióticos naturais e seus derivados semissintéticos em uso clínico podem ser classificados em β -lactâmicos, tetraciclina, aminoglicosídeos, estreptograminas, peptídicos cíclicos e macrolídeos.¹

Os antibióticos macrolídeos são derivados da fermentação de fungos da espécie *Streptomyces* spp ou obtidos por semissíntese e recebem esse nome devido à presença de uma lactona macrocíclica em sua estrutura

química. Além da presença da lactona macrocíclica, outras características estruturais são comuns a essa classe de antibióticos: a presença de um açúcar neutro e de um grupo dimetilamino no resíduo de açúcar, o que explica a característica básica dos antibióticos macrolídeos. O primeiro antibiótico (Figura 1) da subclasse dos macrolídeos conhecida como azalídeos foi a azitromicina (AZ) (9-deoxo-9a-metil-9a-aza-9a-homoeritromicina A).²

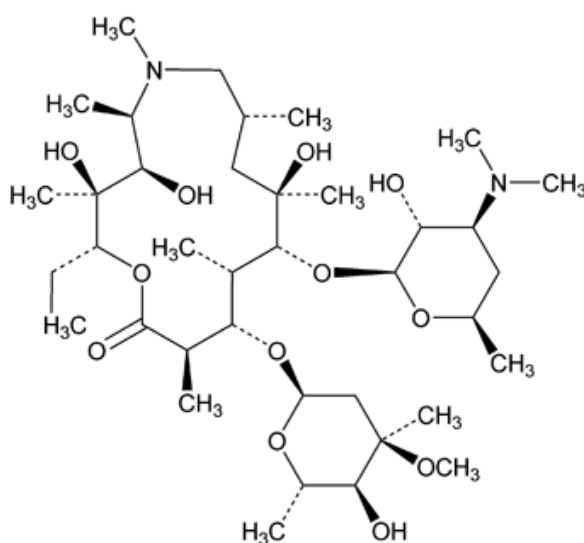


Figura 1. Estrutura química Azitromicina

Atualmente, alguns métodos analíticos podem ser encontrados na literatura especializada a respeito da determinação de azitromicina em diferentes tipos de amostras. No caso de amostras biológicas, a determinação de azitromicina pode ser efetuada empregando-se o método microbiológico,³ espectrometria UV-Vis⁴ ou pelo uso da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção eletroquímica.⁵⁻⁶ Já a sua determinação em formulações farmacêuticas pode ser efetuada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção eletroquímica,⁷⁻⁸ por espectrofluorimetria,⁹ espectrometria de massas,¹⁰⁻¹¹ espectrometria UV-Vis,¹²⁻¹⁴ espectrometria infravermelho¹⁵ ou pelo método de determinação da potência em difusão em ágar, utilizando *Micrococcus luteus* ATCC 9341 como microorganismo

teste.¹⁶⁻¹⁷ Em geral, os métodos descritos demandam equipamentos de alto custo e inviáveis para maioria dos laboratórios, sendo importante o desenvolvimento de métodos mais compatíveis, sob o ponto de vista econômico e que sejam simples, sensíveis, precisos e exatos. Tais requisitos podem ser atendidos quando do uso do método espectrofotométrico. Devido ao fato da radiação absorvida na região do UV-Vis pela azitromicina não ser significativa a ponto de ser utilizada como ferramenta analítica, os métodos espectrofotométricos desenvolvidos necessitam de uma etapa de formação do composto derivado da azitromicina que absorva radiação em um determinado comprimento de onda.

O emprego da análise por injeção em fluxo também é utilizado como forma de automatização em determinações fármacos, o

que permite aumentar a velocidade analítica, diminuir a quantidade de resíduos gerados, melhorar a precisão dos métodos e diminuir o custo operacional global de procedimentos.¹⁸⁻²¹

O objetivo principal deste trabalho foi desenvolver um novo método para a determinação da azitromicina em formulações farmacêuticas, empregando a espectrometria UV-Vis, utilizando a reação de derivatização com a alizarina e aplicar um sistema automatizado com base nos princípios da análise por injeção em fluxo (FIA).

2. Experimental

2.1. Equipamentos

As medidas de absorvância foram realizadas com o auxílio dos espectrofotômetros de absorção molecular UV-Vis de feixe simples, marca FEMTO, modelos 800 XI e 600S, com uma cubeta de quartzo de 10 mm de caminho ótico, fornecida pela Hellma (Alemanha) acoplado a um microcomputador equipado com software

de aquisição de dados e tratamento, fornecido pela própria FEMTO. Além disso, no sistema FIA as soluções foram bombeadas, empregando um bomba peristáltica de 4 canais Gilson, também foram utilizados tubos de poltetrafluoretileno com 0,8 mm de diâmetro interno, uma válvula injetora de 6 canais Rheodyne, modelo 5041e uma cubeta de quartzo para medição em fluxo Hellma com volume interno de 80 μ L e 10 mm de caminho ótico.

Em todas as etapas do trabalho a água utilizada foi obtida a partir de um sistema de ultrapurificação Simplicity Milli-Q (Millipore, Saint Quentin Yvelines, França).

O sistema empregado mostrado na Figura 2 foi operado do seguinte modo: a alça de amostragem (A) é preenchida com solução de azitromicina padrão ou amostra, com auxílio de uma válvula injetora. Ao mesmo tempo, o fluxo da solução de alizarina é misturado ao fluxo da solução carregadora. Ao acionar a válvula, a solução carregadora transporta o conteúdo da alça de amostragem (A) para o ponto de confluência com o reagente. Após acontecer a mistura e reação na bobina de reação (B), o fluxo obtido é bombeado para a célula espectrofotométrica de fluxo (DET) e a medida é dada pelo maior valor de absorvância registrado no sinal transiente.

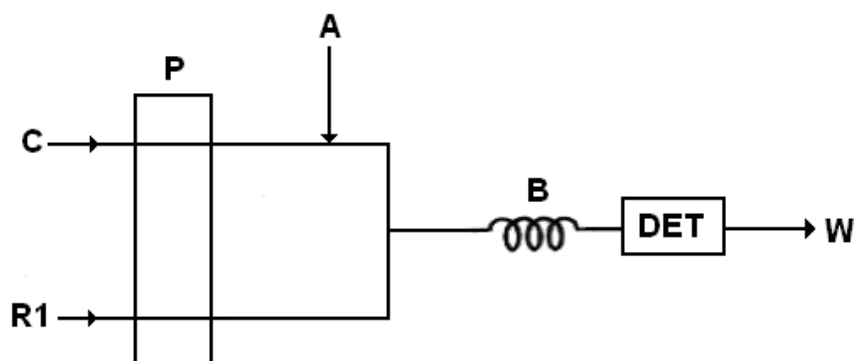


Figura 2. Diagrama de fluxos para o sistema desenvolvido no trabalho. C = solução carregadora, A = amostra, R1 = solução reagente (alizarina), B = bobina de reação, DET = espectrofotômetro, P = bomba peristáltica e W = descarte

2.2. Materiais e reagentes

A solução estoque de azitromicina de 1000 mg. L⁻¹ foi obtida pela dissolução de 10 mg de azitromicina padrão (Pharma Nostra, Anápolis, Brasil) em 10 mL de metanol. As soluções analíticas de azitromicina foram preparadas, a partir da diluição das soluções estoque, tomando-se o volume adequado para construção da curva analítica de solução estoque padrão e completando-se o volume com água purificada.

As soluções estoque de alizarina (1,2-dihydroxiantraquinona) utilizadas na determinação espectrofotométrica em batelada e no sistema FIA foram preparadas pela dissolução de 60 e 125 mg da alizarina (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), em 50 mL de água purificada, respectivamente. As soluções de alizarina empregadas ao longo do estudo foram preparadas, diariamente. Todos os outros reagentes (metanol, etanol, dimetilsulfoxido (DMSO), acetonitrila, acetona) utilizados são de grau analítico fornecido pela Tedia (São Paulo, Brasil).

2.3. Preparação das amostras

As amostras analisadas foram adquiridas em drogarias localizadas no município de Niterói, Estado do Rio de Janeiro. Cinco comprimidos de cada amostra foram pesados separadamente e triturados empregando-se garl e pistilo de porcelana. Uma massa de 50 mg da amostra triturada foi pesada e dispersada em 25 mL de metanol, permanecendo sob agitação durante 5 minutos após esse tempo a solução foi filtrada, utilizando-se filtros de membrana de PTFE com diâmetro de poro de 0,2 µm. Uma alíquota 250 µL da solução obtida foi misturada com 2,5 mL da solução estoque de alizarina e diluída em água purificada usando um balão volumétrico de 25 mL para determinação espectrofotométrica em batelada a amostra utilizada no acoplamento do sistema FIA teve sua alíquota somente diluída com água purificada. A absorvância foi

medida em 525 nm.

3. Resultado e Discussão

O desenvolvimento da metodologia para determinação espectrofotométrica de azitromicina em formulações farmacêuticas, aplicando um sistema automatizado com base nos princípios da análise por injeção em fluxo, foi realizado em quatro etapas. Na primeira etapa, as condições experimentais da metodologia em batelada (efeito da natureza do solvente e influência da concentração do reagente) foram otimizadas, para obtenção de máxima sensibilidade analítica, empregando-se uma estratégia univariada. Posteriormente, a reação entre a azitromicina e a alizarina foi avaliada no que diz respeito à estequiometria, empregando-se o método de Job e foram determinadas a constante de associação e a absorvância molar aparente do composto colorido formado. Na terceira etapa empregando uma estratégia univariada foram otimizadas as variáveis (efeito do volume de amostra injetado, efeito do volume da bobina de reação, a influência da vazão do carregador e a influência da concentração do reagente) relacionadas ao sistema FIA. Finalmente, na última etapa do trabalho, o método desenvolvido em batelada e com aplicação do sistema FIA foram aplicados na determinação de azitromicina em três amostras de medicamentos comerciais.

3.1. Efeito do solvente

No estudo do efeito do solvente, foram utilizados metanol, etanol, DMSO, acetonitrila, acetona e água. Nele foi observada uma diferença de aproximadamente 59,8, 61,1 e 80,2 % nas absorvâncias em seus comprimentos de onda máximos, a favor da água, quando comparado ao etanol, metanol e DMSO, respectivamente. Quando foram utilizados acetonitrila e acetona como solvente os sinais encontrados não apresentaram diferenças estatísticas

significativas quando comparados com a linha de base, indicando que a reação não ocorreu. Neste caso o solvente escolhido como meio reacional foi a água, por ter apresentado um maior sinal analítico, além da facilidade de obtenção, a menor toxicidade quando comparados com os outros solventes, ao baixo custo e a facilidade de utilização em um sistema FIA.

3.2. Efeito da concentração da alizarina

A concentração do reagente em solução é um parâmetro importante, para alcançar uma melhor sensibilidade, já que a conversão do analito na espécie absorvente depende da quantidade de reagente na solução. Neste trabalho a influência da concentração de alizarina no meio reacional foi avaliada em um intervalo de 0 à 500 mg. L⁻¹, utilizando uma solução padrão de azitromicina com concentração de 25 mg. L⁻¹. A concentração final de reagente, ideal nas condições do estudo, para determinação espectrofotométrica e no sistema FIA foi igual a 120 mg. L⁻¹ e 250 mg. L⁻¹, respectivamente, a partir dessas concentrações o aumento dos sinais analíticos foram discretos.

3.3. Avaliação da estequiometria da reação

A estequiometria da reação entre azitromicina (AZ) e alizarina (ALZ) foi determinada com base nos resultados espectrais obtidos para o sistema AZ-ALZ, utilizando-se o método das variações contínuas ou Método de Job.²³ Conforme propõe o método, tomou-se alíquotas das soluções estoque de AZ e ALZ em concentrações iguais a 1×10^{-3} mol L⁻¹. Como o número de mols deve ser mantido constante, fixou-se o volume total (AZ + ALZ) em 500 µL, variando-se apenas a razão entre os volumes de AZ e ALZ. O volume da solução final foi completado para 10 mL com água purificada. Observou-se que até a proporção 1:1 (AZ:ALZ), há um aumento linear da absorvância da espécie, havendo uma diminuição desta à medida que a concentração de AZ é diminuída. Estes resultados deram origem a um gráfico –Figura 3 – de fração molar *versus* absorvância em 525 nm (banda da espécie), no qual obteve-se uma curvatura próxima ao valor de 0,5 de fração molar, indicando a predominância da espécie 1:1.

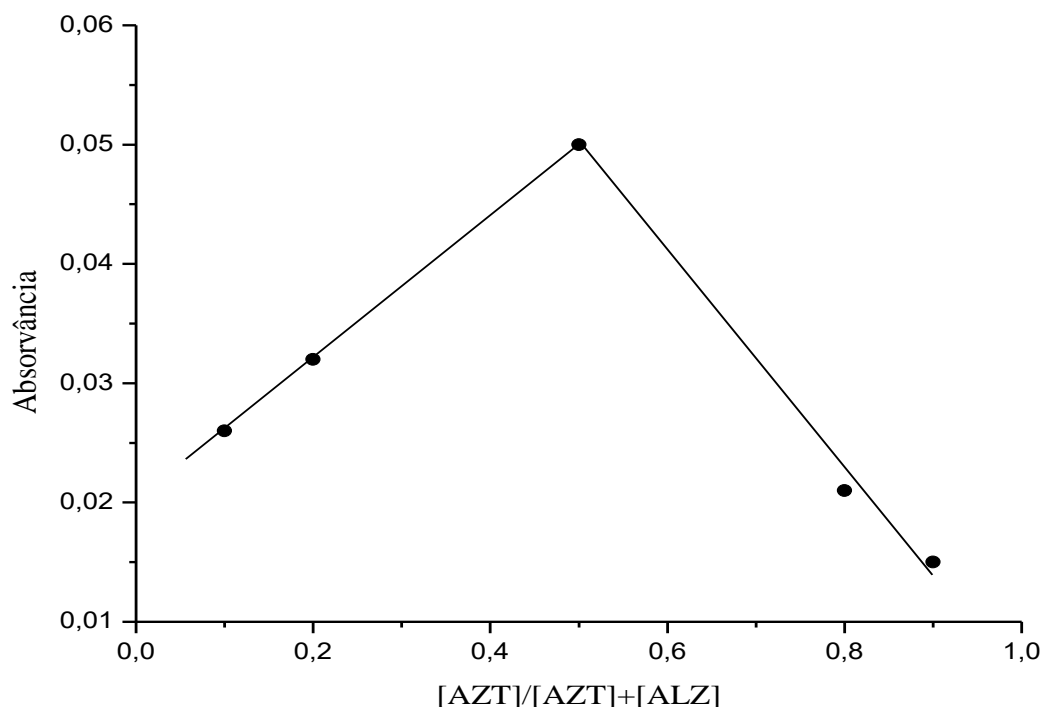


Figura 3. Determinação da estequiometria da reação da azitromicina com a alizarina pelo Método de Job. Os valores de absorvância foram medidos em 525 nm

3.4. Cálculo da absorvidade molar aparente e da constante de associação

A constante de associação e a absorvidade molar aparente para o produto AZ-ALZ foi encontrada usando a equação de Ross e Labes.²⁴

$$\frac{[ALZ][AZ]}{[ALZ]+[AZ]} \times \frac{1}{A} = \frac{1}{K\epsilon} \times \frac{1}{[ALZ]+[AZ]} + \frac{1}{\epsilon} \quad (\text{Equação 1})$$

Na equação 1 [AZ] e [ALZ] são as concentrações de azitromicina e alizarina, respectivamente. A e ϵ são absorvância e absorvidade molar aparente do complexo em 525 nm e K é a constante de associação.

A aplicação da equação de Ross e Labes requer a construção de um gráfico de $1/([ALZ]$

+ [AZ]) versus $([ALZ][AZ]/([ALZ] + [AZ]) \times 1/A$ (Figura 4). A partir dos coeficientes linear e angular obtidos calculou-se a absorvidade molar aparente e a constante de associação do AZ-ALZ, que foram $6,97 \times 10^2 \text{ mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ e $3,06 \times 10^3 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, respectivamente.

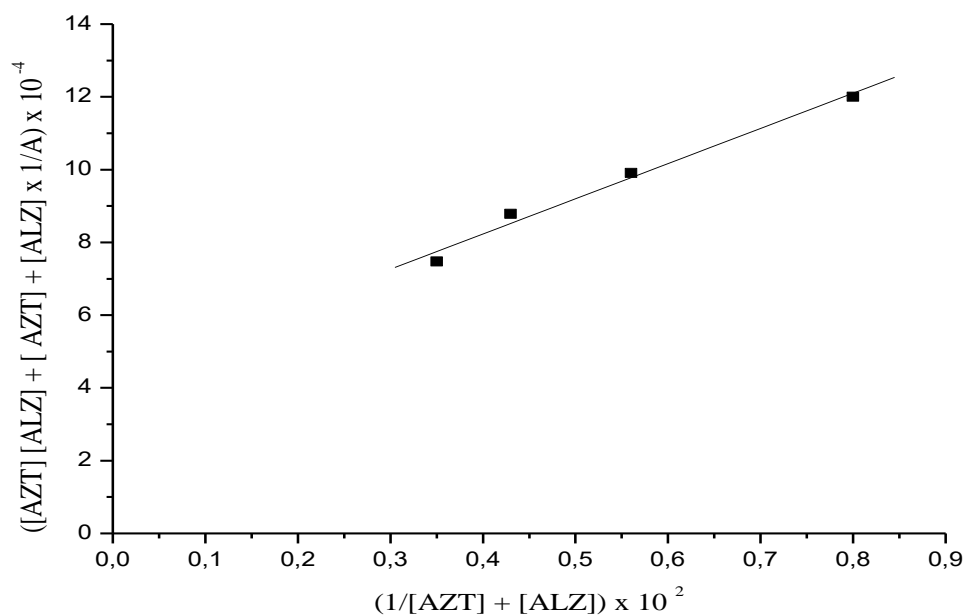


Figura 4. $([AZ][ALZ] + [AZ] + [ALZ] \times 1/A) \times 10^{-4}$ versus $(1/[AZ] + [ALZ]) \times 10^2$ para cálculo da constante de associação do complexo AZ-ALZ

3.5. Caracterização da reação

Na molécula da alizarina a ligação intramolecular do hidrogênio da hidroxila do carbono 1 com o oxigênio do grupo C=O, chamada ligação cetofenólica, e a impossibilidade da ligação do outro grupo C=O da molécula, já que o carbono 4 não está ligado a nenhum grupo hidroxila. Outro tipo de ligação intramolecular de hidrogênio é a difenólica que no caso da alizarina é a ligação entre os hidrogênios das hidroxilas do carbono 1 e 2.²² Sendo assim, o espectro de infravermelho da alizarina mostra duas bandas de absorção em 1666 cm^{-1} e 1636 cm^{-1} , diferentemente dos espectros da quinizarina, do ácido antraflavico e da purpurina (Figura 5).

A ligação cetofenólica induz também a mudança significativa nas bandas de absorção na região do visível de três hidroxiantraquinonas²². No caso do ácido antraflavico não é encontrada banda de absorção na região do UV-Vis, mas a ocorrência de uma forte absorção em 328 nm. No caso da alizarina e da quinizarina, com duas ligações de hidrogênio cada uma, ocorre o aparecimento de uma banda de absorção em 426 e 476 nm, respectivamente. Contudo, a quinizarina com duas ligações cetofenólicas absorve em comprimento de onda mais alto e com maior intensidade que a alizarina, onde ocorre uma ligação cetofenólica e uma difenólica.

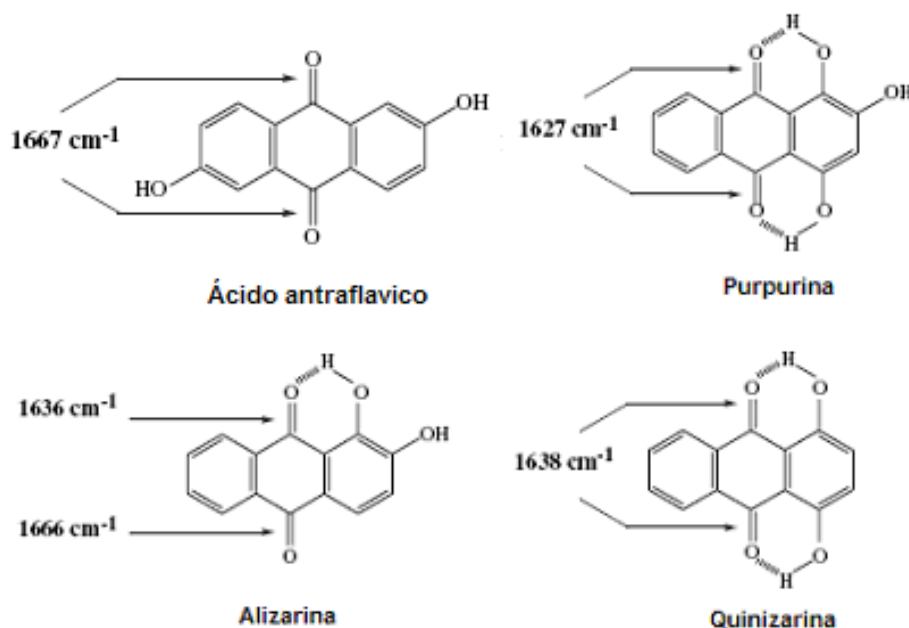


Figura 5. Grupo funcional responsável pela banda de absorção no infravermelho nas hidroxiantraquinonas²²

Para caracterização da reação foi estudado a influência do pH sobre a intensidade do sinal analítico do produto formado pela reação entre alizarina e azitromicina usando diferentes tipos de soluções tampão: ácido fosfórico nas soluções com pH 2,3 e 3,0, acetato de sódio nas soluções com pH 4,1; 5,1 e 6,1 e fosfato de sódio nas soluções com pH 7,2 e 8,0, todas com concentração de $0,01\text{ mol. L}^{-1}$.

A Figura 6 mostra os espectros da alizarina em função do pH, que variou de 2,3 a 8,0. A banda em torno de 425 nm é observada em toda a região ácida até pH 4,1, onde se observa a cor amarela. A partir do pH 4,1 até 8,0 há uma diminuição da banda de absorvância em 425 nm, ao mesmo tempo em que se observa o surgimento de uma nova banda com absorção máxima em 525 nm, que corresponde à cor vermelha, pH 2,3.

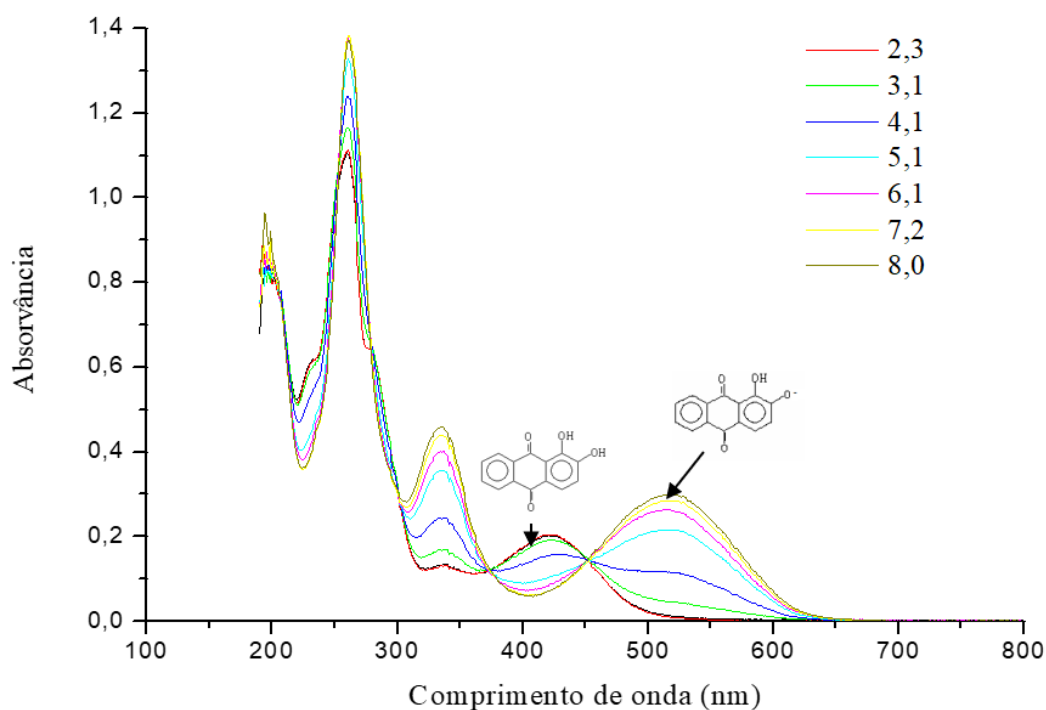


Figura 6. Espectro de absorção no UV-Vis de ALZ em diferentes valores de pH. Concentração alizarina 30 mg. L⁻¹

Este comportamento reflete o fato de que as formas ácidas, mostram cor amarela com absorção em torno de 425 nm, enquanto a forma fenolato, a qual existe em solução alcalina, mostra cor vermelha com absorção máxima em torno de 525 nm. O espectro da alizarina exibe dois pontos isobésticos, em 375 nm e 454 nm, demonstrando o equilíbrio entre as duas formas do composto (Figura 6).

Conhecido o comportamento do reagente alizarina, pode-se verificar que a reação entre azitromicina e alizarina é do tipo ácido-base, de acordo com esquema mostrado na Figura 7. Isso se dá pelo fato de haver uma mudança no pH proporcionalmente à adição de azitromicina (Figura 8). Quando o pH do meio reacional foi controlado por qualquer sistema tampão, não foi observado sinal analítico. Então optou-se por trabalhar em meio com pH não ajustado

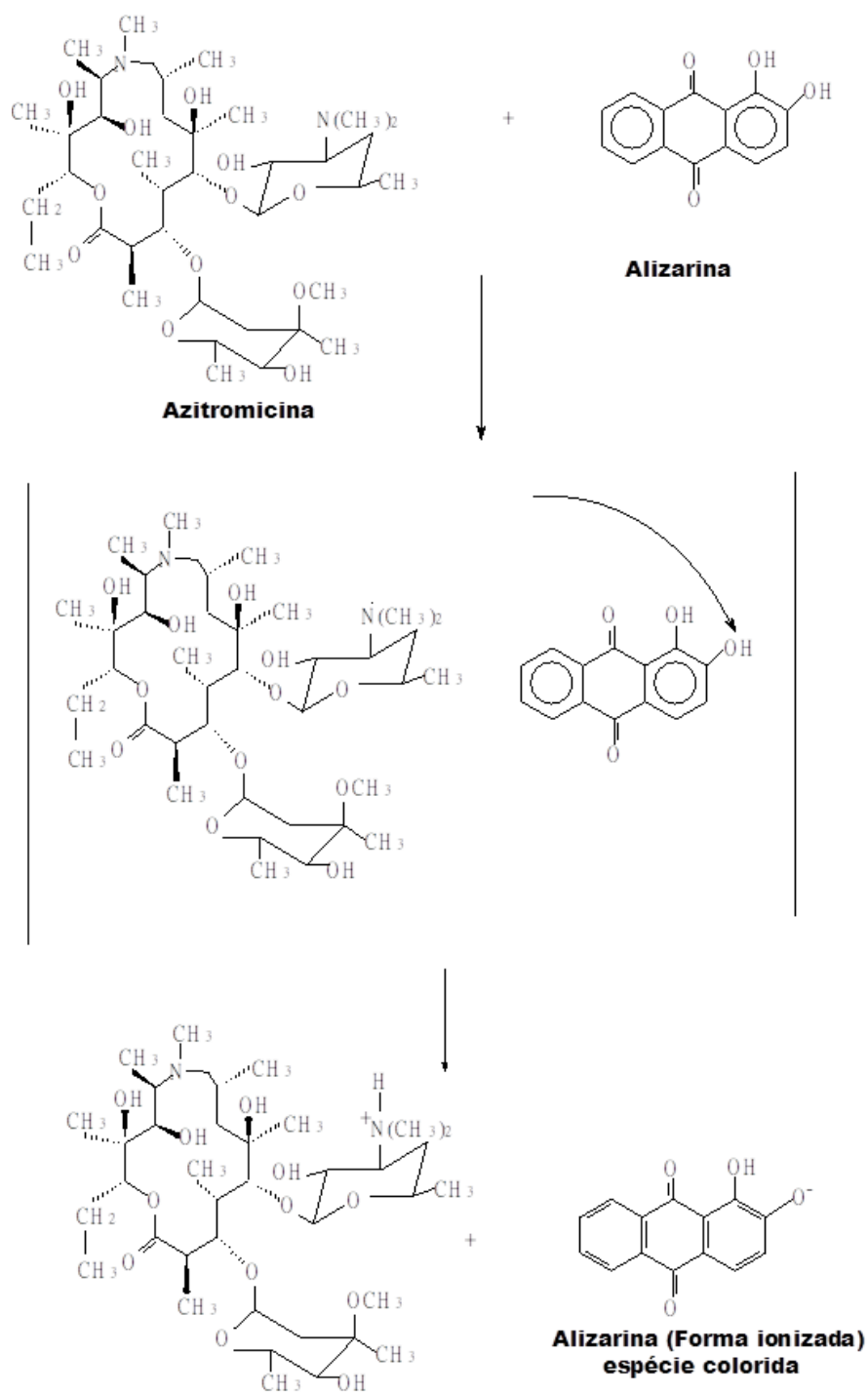


Figura 7. Possível mecanismo de formação da espécie derivada da reação entre alizarina e azitromicina

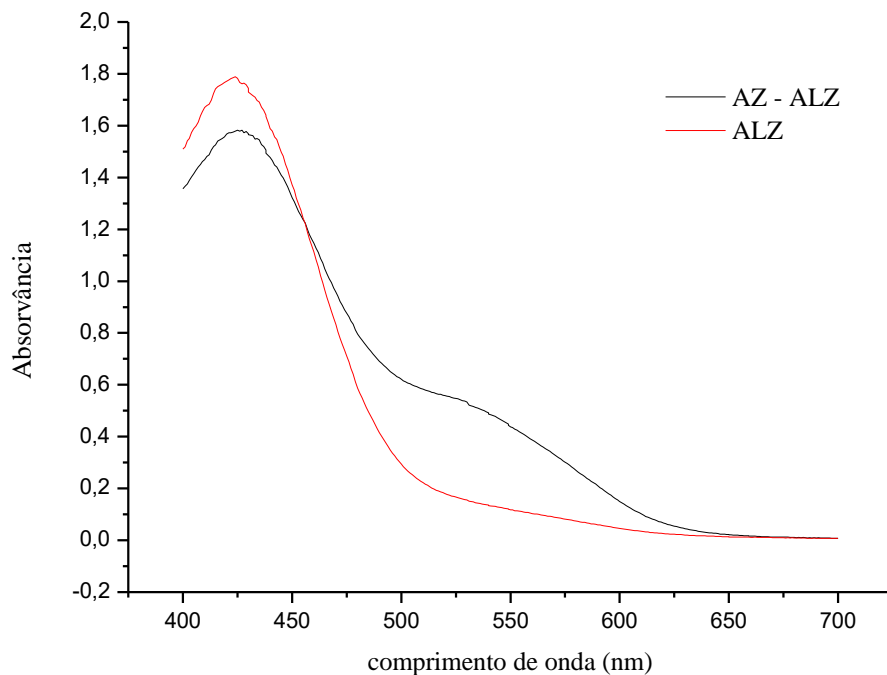


Figura 8. Espectro de absorção: (AZ-ALZ) espécie formada na reação de azitromicina com alizarina e (ALZ) reagente alizarina. Concentração alizarina 120 mg. L^{-1} e azitromicina 20 mg. L^{-1} .

3.6. Efeito das variáveis relacionadas ao sistema FIA

Volume de amostra injetada

Nos sistemas FIA, o volume de amostra injetado controla, de fato, a quantidade de analito inserida para reação. De um modo geral, um aumento do volume injetado causa um aumento do sinal analítico. Entretanto, devido às condições do fluxo laminar observadas em sistemas FIA, o fenômeno da dispersão da zona de amostragem também influencia este processo. Com o aumento do volume de amostra injetado, a dispersão da zona de amostragem diminui até um volume limite onde, a partir daí, não se observa efetivamente dispersão da zona analítica central.

No sistema em questão, o volume injetado foi avaliado no intervalo de 125 a 500 μL , o sinal analítico aumenta linearmente até um volume de 375 μL . A partir deste ponto, o sinal

manteve-se estável, indicando que a dispersão da zona de amostragem manteve-se constante. A fim de garantir maior velocidade para o sistema, um volume de 250 μL foi escolhido para o método.

Bobina de reação

A bobina de reação controla o tempo de reação entre o analito injetado no sistema e o reagente. Aumentos excessivos do volume da bobina de reação podem proporcionar maior tempo para a reação, aumentando o sinal analítico, mas também podem causar aumento da dispersão da zona de amostragem, diminuindo o mesmo. Adicionalmente, a mistura entre os fluxos carregador e reagente é intensificada com o aumento do volume da bobina de reação, contribuindo para diminuição da flutuação da linha de base. Assim, a avaliação de sua influência fornece importantes informações sobre o sistema em estudo.

Neste trabalho, variou-se o comprimento da bobina de reação na faixa de 125 a 1000 μL , a fim de buscar um equilíbrio entre os fenômenos citados acima. Observou-se que, no intervalo de comprimentos da bobina de reação analisados, houve uma variação significativa do sinal analítico a partir do volume de 250 μL . A fim de manter obter maior velocidade analítica e melhor mistura entre solução reagente e carregador, um reator com comprimento de 250 μL foi escolhido.

Vazão do carregador

Juntamente com o comprimento da bobina de reação, a vazão da solução carregadora controla o tempo de contato entre analito e reagente. Vazões baixas são utilizadas para reações com tempo mais longo, enquanto em vazões mais altas este tempo é restringido.

Na avaliação da influência da vazão do carregador foram testadas vazões entre 1,6 e 4,0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Empregando as condições reacionais otimizadas, os maiores sinais analíticos foram observados na vazão de 4,0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

3.7. Parâmetros analíticos do método

Após a otimização das condições experimentais das metodologias desenvolvidas, com objetivo de garantir a confiabilidade dos resultados obtidos nas determinações, alguns parâmetros analíticos de mérito como linearidade, sensibilidade, repetitividade e exatidão foram calculados e mostrados na tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros de mérito para a determinação de AZ (n = 3)

Parâmetros de Mérito	Sistema FIA	Manual
Faixa linear	8 a 40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	4 a 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
Equação da reta	$A = 0,0055 [\text{AZ}] + 0,0291$	$A = 0,0171 [\text{AZ}] + 0,1631$
r (coeficiente de correlação)	0,999	0,997
Limite de detecção*	2,95 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	1,88 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
Limite de quantificação**	11,9 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	6,27 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$
Desvio Padrão Relativo	1,54 %	4,74 %
Frequência de amostragem	90 h^{-1}	----

* LD = $3s/S$

** LQ = $10s/S$

Para verificar a exatidão do método desenvolvido foi realizado um ensaio de recuperação. Neste ensaio de recuperação, foram adicionados 100 mg e 200 mg de azitromicina padrão, em uma quantidade conhecida de amostra do comprimido, depois as misturas foram solubilizadas em metanol e foi seguido o mesmo procedimento para

medição do sinal analítico utilizado no método desenvolvido para determinação de azitromicina. Os ensaios de recuperação foram efetuados obtendo-se valores entre 93 e 110 % para metodologia em batelada e entre 99 e 108 % para metodologia acoplada com sistema FIA.

4. Aplicação da Metodologia

As metodologias desenvolvidas foram aplicadas na determinação de azitromicina em três amostras de medicamentos vendidos no Brasil. Para todas as amostras, os valores indicados pelos fabricantes eram de 524 mg de azitromicina dihidratada por comprimido. Os resultados obtidos utilizando metodologia em batelada e quando acoplado o sistema FIA foram comparados com os valores declarados pelos fabricantes e são apresentados na

Tabela 2. Como pode ser visto, nas três amostras analisadas foram encontradas quantidades de azitromicina dihidratada superiores àquelas declaradas nas bulas. Entretanto, deve-se considerar que estes valores estão dentro das regulamentações indicadas pela Farmacopeia Brasileira, que determina que, no caso de comprimidos, o conteúdo analisado deve estar entre 85 e 115% do valor declarado, além disto, nenhuma alíquota da amostra deve apresentar conteúdo fora da faixa de 75, a 125% do valor declarado e coeficiente de variação menor ou igual que 6,0%.¹⁶

Tabela 2. Resultados obtidos na determinação de azitromicina em comprimidos individuais. Valores expressos como a média \pm desvio padrão em mg de azitromicina diidratada por comprimido (n = 3)

Amostra	Método FIA	Diferença*(%)	Método Batelada	Diferença*(%)
B1	574 \pm 1,66	8,71	597 \pm 1,7	12,3
B2	566 \pm 1,49	7,42	559 \pm 2,2	6,26
B3	564 \pm 1,07	7,09	522 \pm 1,9	0,38

*Diferença em relação ao valor declarado pelo fabricante de 524 mg

5. Conclusão

Os métodos desenvolvidos são simples, precisos, exatos e não apresentam diferença estatística significativa. O acoplamento do sistema por injeção em fluxo aumentou significativamente a precisão e a velocidade do método desenvolvido, como visto pela frequência de amostragem avaliadas de 90 amostras por hora. Assim, podem ser implementados na rotina de controle de qualidade para forma pura e formulações farmacêuticas contendo azitromicina.

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), FAPERJ (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro) e CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pelo apoio financeiro, bolsas e bolsas de estudo.

Referências Bibliográficas

- Guimarães, D. O.; Momesso, L. S.; Pupo, M T.; Antibióticos: Importancia terapêutica e prespectiva para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Química Nova* **2010**, 33, 667. [CrossRef]
- Korolkovas, A.; *Dicionário Terapêutico Guanabara*. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2006.

Agradecimentos

- ³ Salgado, H. R.; Roncari, A.; Microbiological assay for the determination of azithromycin in ophthalmic solutions. *Acta Pharmaceutica Sinica* **2005**, *40*, 544. [[PubMed](#)]
- ⁴ Chavada, V. D.; Bhatt, N. M.; Sanyal, M.; Shrivastav, P. S.; Surface plasmon resonance based selective and sensitive colorimetric determination of azithromycin using unmodified silver nanoparticles in pharmaceuticals and human plasma. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Espectroscopy* **2017**, *170*, 97. [[CrossRef](#)]
- ⁵ Leal, C.; Rosa, C; Ramon, C; Merc, G; Dolores Prat, M; Determination of macrolide antibiotics by liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* **2014**, *910*, 285. [[CrossRef](#)]
- ⁶ Bahrami, G.; Mohammadia, B.; A new on-line, in-tube pre-column derivatization technique for high performance liquid chromatographic determination of azithromycin in human serum. *Journal of Chromatography* **2006**, *B830*, 355. [[CrossRef](#)]
- ⁷ The United States Pharmacopeia – The National Formulary – USP 27; NF- 22, 2004.
- ⁸ Zeng, A.; Liu, X.;Zhang, Y.;Huang, P.;Du, K.; Fu, Q.; Determination of azithromycin in raw materials and pharmaceutical formulations by HPLC coupled with an evaporative light scattering detector. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* **2014**, *9*, 107. [[CrossRef](#)]
- ⁹ Khashaba, Y. P.; Spectrofluorimetric analysis of certain macrolide antibiotics in bulk and pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2002**, *27*, 923. [[CrossRef](#)]
- ¹⁰ Sastre, T. J.; Guchelaar, H.J.; Quantitative determination of macrolides in human serum by high performance liquid chromatography using precolum derivatization with 9 flurenyl methyloxcarbonyl chloride and fluorescence detection. *Journal Chromatography* **1998**, *720*, .89. [[CrossRef](#)]
- ¹¹ Abuin, S.; Codony, R.; Compañó, R.; Granados, M.; Prat, M. D.; Analysis of macrolide antibiotics in river water by solid-phase extraction and liquid chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **2006**, *1114*, 73. [[CrossRef](#)]
- ¹² Rachidi, M.; Elharti, J.; Digua, K.; Cherrah, Y.; Boukloze, A.; New spectrophotometric method for azithromycin determination. *Analytical Letters* **2006**, *39*, 1917. [[CrossRef](#)]
- ¹³ Sultana, N.; Arayne, M. S.; Hussain, F.; Fátima, A.; Degradation studies of azithromycin and spectrophotometric determination in pharmaceutical dosage forms. *Pakistan. Journal of Pharmacuetical. Sciences* **2006**, *19*, 94. [[CrossRef](#)]
- ¹⁴ de Paula, C. E. R.; Almeida, V. G. K.; Cassella, R. J.; Novel spectrophotometric method for the determination of azithromycin in pharmaceutical formulations based on its charge transfer reaction with quinalizarin, *Journal of the Brazilian Chemical Society* **2010**, *21*, 1664. [[CrossRef](#)]
- ¹⁵ Robaina, N. F.; de Paula, C. E. R.; Brum, D. M.; de la Guardia, M.; Garrigues, S.; Cassella, R. J.; Novel approach for the determination of azithromycin in pharmaceutical formulations by Fourier transform infrared spectroscopy in film-through transmission mode, *Microchemical Journal* **2013**, *110*, 301. [[CrossRef](#)]
- ¹⁶ Farmacopeia Brasileira, 5a edição, Parte II, quinto fascículo, 218, 2010. [[Link](#)]
- ¹⁷ Brier, A. R.; Garcia, C. V.; Oppe, T. P.; Steppe, M.; Schapoval, E. S.; Microbiological assay for azithromycin in pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2002**, *29*, 957. [[CrossRef](#)]
- ¹⁸ Santos, A. M.; Vicentini, F. C.; Figueiredo-Filho, L. C. S.; Deroco, P. B.; Fatibello-Filho, O.; Flow injection simultaneous determination of acetaminophen and tramadol in pharmaceutical and biological samples using multiple pulse amperometric detection with a boron-doped diamond electrode, *Diamond and Related Materials* **2015**, *60*, 1. [[CrossRef](#)]
- ¹⁹ Lima, J. L. F. C.; Montenegro, M. C. B. S. M.; Sales, M. G. F.; Cefuroxime selective electrodes for batch and FIA determinations in pharmaceutical preparations, *Journal of*

- Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **1998**, *18*, 93. [CrossRef]
- ²⁰ Musil, K.; Florianova, V.; Bucek, P.; Dohnal, V.; Kuca, K.; Musilek, K.; Development and validation of a FIA/UV-vis method for pK_a determination of oxime based acetylcholinesterase reactivators, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, **2016**, *117*, 240. [CrossRef]
- ²¹ Yeniceli, D.; Dogrukol-Ak, D.; Tuncel, M.; Determination of lansoprazole in pharmaceutical capsules by flow injection analysis using UV-detection, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* **2004**, *36*, 145. [CrossRef]
- ²² Hovaneissian, M.; Archier, P.; Vieillescazes, C.; Influence of cetophenolic and diphenolic intramolecular hydrogen bonding on the chromatographic and spectroscopic properties of hydroxyanthraquinones. *Dyes and Pigments* **2007**, *74*, 706. [CrossRef]
- ²³ Rocha, F.; Reis, P.; Experimentos Didáticos utilizando sistema de análise por injeção em fluxo. *Química Nova* **2000**, *23*, 119. [CrossRef]
- ²⁴ Rahman, N.; Anwar, N.; Kashif, M.; Application of π-acceptors to the spectrophotometric determination of lisinopril in commercial dosages forms. // *Fármaco* **2005**, *60*, 605. [CrossRef]