

## DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA DE GLICLAZIDA EM COMPRIMIDOS POR ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA<sup>1</sup>

### *QUANTITATIVE DETERMINATION OF GLICLAZIDE IN TABLETS BY UV SPECTRUMPHOTOMETRY*

Carla G. Batistela<sup>2</sup>, Luciane Varini Laporta<sup>3</sup> e Marcos Roberto dos Santos<sup>4</sup>

#### RESUMO

A gliclazida é um antidiabético oral, pertencente à classe das sulfonilureias, que atua reduzindo os níveis de glicose no sangue por estimulação da secreção de insulina pelo pâncreas. Está disponível no mercado farmacêutico brasileiro na forma de comprimidos na concentração de 30 mg. Somente a British Pharmacopoeia possui monografia para a quantificação de gliclazida comprimidos, que utiliza o método por cromatografia líquida de alta eficiência. O presente trabalho teve como objetivo otimizar e validar método rápido, por espectrofotometria de absorção no ultravioleta para a determinação quantitativa de gliclazida. O método foi validado utilizando-se acetonitrila e água como solventes, amostra na concentração de trabalho em 80 µg/mL e a quantificação do ativo em 244 nm. Este se mostrou específico, linear na faixa de 40 a 120 µg/mL, limite de detecção de 6,32 µg/mL e quantificação de 18,99 µg/mL, precisão com DPR < 1%, exatidão média de 100,74% e robustez adequada. O método validado por espectrofotometria de absorção no ultravioleta não apresentou diferença significativa quando comparado ao método oficial, por cromatografia líquida de alta eficiência, podendo ser utilizado com segurança na quantificação de gliclazida comprimidos.

**Palavras-chave:** gliclazida, controle de qualidade, espectrofotometria no UV, validação.

#### ABSTRACT

*Gliclazide is an oral antidiabetic that belongs to the sulfonylureas class and acts by reducing levels of blood glucose by stimulating insulin secretion by the pancreas. It is available in the Brazilian pharmaceutical market in tablet form at a concentration of 30 mg. Only British Pharmacopoeia has monograph for making gliclazide tablets. It uses the method of high efficiency liquid chromatography. This study aimed to optimize and validate a rapid method based on UV absorption spectrophotometry for the quantitative determination of gliclazide. The method was validated using acetonitrile and water as solvent with a sample of working concentration of 80 µg/mL and quantification at 244 nm. This was specific and linear in the range from 40 to 120 µg/L, identification limit of 6.32 µg/mL and quantification of 18.99 µg/mL, precision with RSD < 1%, average accuracy of 100.74% and adequate hardness. The method, validated by ultraviolet absorption spectrophotometry, showed no significant difference when compared to the official method by liquid chromatography with high efficiency and can be safely used in quantification of gliclazide tablets.*

**Keywords:** Gliclazide, quality control, spectrophotometry on UV, validation.

<sup>1</sup> Trabalho Final de Graduação - TFG.

<sup>2</sup> Acadêmica do Curso de Farmácia - UNIFRA. E-mail: luciane.laporta@terra.com.br

<sup>3</sup> Orientadora - UNIFRA.

<sup>4</sup> Colaborador - UNIFRA.

## INTRODUÇÃO

O número de pessoas portadoras de diabetes vem crescendo a cada ano e necessitam, na maioria das vezes, além de dieta e realização de exercícios, da utilização de medicamentos que venham a controlar o nível da glicemia. Em razão de sua elevada prevalência, acentuada morbidade e mortalidade, e por fim, das repercussões econômicas e sociais decorrentes do impacto de suas complicações, o diabetes é um problema de saúde pública. Caracteriza-se por uma deficiência absoluta ou relativa de insulina que irá influenciar negativamente o metabolismo dos glicídios (OLIVEIRA; MILECK, 2004). O diabetes mellitus tipo 2 têm se tornado um dos distúrbios mais comuns em clínica médica, sendo considerado uma doença sistêmica crônica e grave, com alto risco de morbidade e mortalidade (ARAÚJO et al., 2000).

Os medicamentos utilizados para evitar a hiperglicemia são divididos de acordo com o mecanismo de ação: secretagogos de insulina, que compreendem as sulfoniluréias, metiglinidas e inibidores das 4-dipeptidilpeptidase; os sensibilizadores de insulina, como as tiazolidinedionas/glitazonas e as biguanidas; e os inibidores da captação de carboidratos, grupo formado basicamente pelos inibidores de  $\alpha$ -glucosidase (INZUCCHI, 2006).

A gliclazida (Figura 1) é um antidiabético oral pertencente à classe das sulfonilureias de segunda geração, que atua reduzindo os níveis de glicose no sangue, estimulando a secreção de insulina pelo pâncreas. Suas doses diárias podem variar de 30 mg a 320 mg, sendo administrada em jejum ou juntamente com a primeira refeição substancial. Possui meia vida de 4 a 6 horas com efeitos hipoglicemiantes evidentes até 24 horas após a administração (KATZUNG, 2003; FUCHS; WANNMACHER; FERREIRA, 2006; KOROLKOVAS, 2008).

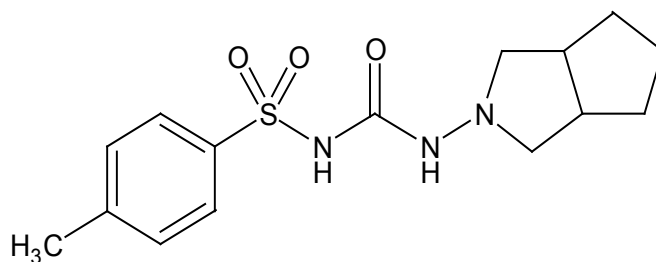


Figura 1 - Estrutura química da gliclazida.

Apresenta-se na forma de um pó cristalino branco, com faixa de fusão entre 180 a 182 °C. Seu número no Chemical Abstract é 21187-98-4 com a seguinte denominação química N-[[[hexaidrociclopenta[c]pirol-2(1H)-il]amino]carbonil]-4-metilbenzenosulfonamida (THE MERCK INDEX, 2001). É praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em cloreto de metileno,

parcialmente solúvel em acetona e levemente solúvel em etanol (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2008).

A escolha de uma metodologia analítica adequada é de fundamental importância para se proceder ao controle de qualidade de uma substância ativa, como tal, ou sob uma determinada forma farmacêutica e depende de vários fatores, tais como a natureza do fármaco, complexidade da formulação, pureza e quantidade de amostra, bem como o propósito de quantificação, ou seja, qualitativo, semi-quantitativo ou quantitativo. As disponibilidades econômicas, de equipamentos e reagentes, também devem ser consideradas (MEHTA, 1997; ERMER, 2001).

A espectrofotometria na região do ultravioleta (200 a 400 nm) representa um dos métodos instrumentais mais empregados, em razão da maioria das substâncias apresentarem absorção nessa região (GIL, 2007). A cromatografia a líquido de alta eficiência é atualmente, um dos métodos preferenciais das indústrias farmacêuticas, devido a sua boa sensibilidade e baixa vulnerabilidade a interferentes, já que se trata de uma técnica de separação acoplada a sistema de detecção, além da vantagem da automação. Esse método apresenta algumas desvantagens como o alto custo da instrumentação e operação, a falta de um detector universal e a necessidade de experiência no seu manuseio (COLLINS; BRAGA; BONATO, 1997; GIL, 2007).

As Farmacopeias são os códigos oficiais e as monografias descritas nesses compêndios são de uso obrigatório, tanto para os produtores como para os laboratórios de controle de qualidade. A monografia da gliclazida comprimidos está descrita na British Pharmacopoeia (2008), que utiliza cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a sua quantificação. No Brasil, o produto é comercializado nas formas farmacêuticas de comprimidos e não tem nenhum método oficial descrito na Farmacopeia Brasileira (1988). Assim, neste trabalho tem-se por objetivo principal validar metodologia analítica por espectrofotometria no UV para a quantificação de gliclazida na forma farmacêutica de comprimidos.

## **MATERIAL E MÉTODO**

*Substância Química de Referência* (SQR): Gliclazida - Farmacopeia Brasileira (Lote: 1057).

*Amostra*: Gliclazida 30 mg, medicamento referência (Lote: 9L0620).

*Reagentes*: Água destilada; Acetona (MERCK); Acetonitrila (MERCK); Etanol (MERCK); Fosfato de potássio monobásico (VETEC); Hidróxido de sódio (CARLO ERBA); Acetonitrila grau cromatográfico (MERCK); Trietilamina (MERCK); Ácido trifluoroacético (VETEC).

*Equipamentos e acessórios*: Aparelho de desintegração, PHARMA TEST, modelo PTZ; Aparelho de dissolução, PHARMA TEST, modelo PTWS-3E; Espectrofotômetro, SHIMADZU – UV 1650 PC; Membrana filtrante porosidade 0,45 mm, Millipore; Balança analítica, BOSCH, modelo SAE

200; Estufa a vácuo, modelo VACUCCELL 55; Estufa de secagem, Vidraria calibrada, aparelho de friabilidade, PHARMA TEST, modelo PTF 10E; Banho ultra-sônico, Unique, USC 1400, Mesa agitadora, TECNAL, modelo TE 140. Cromatógrafo líquido de alta eficiência, SHIMADZU, com sistema de bombas LC-10AD. Desgaseificador FCV-10AL. Alto injetor 10AD. Forno CTO-10AS e detector SPD-10A com software CLASS-VP.

## VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

O método proposto foi validado conforme Resolução RE 899, The United States Pharmacopeia e International Conference on Harmonization (ICH), sendo utilizando o medicamento referência para a realização dos testes.

## PADRONIZAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

### **Determinação do melhor solvente**

Para otimização de método espectrofotométrico na região do ultravioleta inicialmente, investigou-se o espectro de absorção do fármaco em diferentes solventes para definir as bandas de absorção máxima suas intensidades e para escolher o comprimento de onda de trabalho, onde não devem ser observadas interferências de excipientes, impurezas ou de solventes. A gliclazida é solúvel em etanol, acetona, metanol, acetonitrila, clorofórmio e soluções aquosas de hidróxidos alcalinos. Com base na sua solubilidade foi avaliado o emprego de etanol, acetonitrila e acetona como co-solventes e de água, hidróxido de sódio 0,1 M e 1 M, acetona e etanol como diluentes para determinação quantitativa do fármaco em comprimidos.

### **Espectros de absorção**

Prepararam-se soluções de SQR de gliclazida na concentração de 100 µg/mL, utilizando-se etanol (M1), acetona (M2) e acetonitrila (M3). Diluíram-se as amostras M1, M2 e M3 até a concentração de 10 µg/mL com: água (M1, M2 e M3), hidróxido de sódio 0,1 M e 1 M (M1 e M2), etanol (M1) e acetona (M2). Traçou-se o espectro de cada uma das soluções obtidas, na faixa de 200 nm a 400 nm para observar a presença de sinais na faixa analítica.

### **Solução estoque de gliclazida SQR**

Foram pesadas analiticamente quantidades de SQR previamente desidratada a 110 °C por 2 horas, correspondente a 25 mg de gliclazida, as quais foram transferidas para balão volumétrico de 25 mL. Completou-se o volume com o mesmo diluente, obtendo-se solução na concentração de 1000 µg/mL.

## **Solução estoque da amostra**

Determinou-se o peso médio de 20 comprimidos, os quais foram posteriormente triturados. Pesaram-se quantidades equivalentes a 40 mg de gliclazida transferiu-se para balões volumétricos de 50 mL, com o auxílio de 30 ml de acetonitrila. Agitou-se mecanicamente por 40 minutos, completaram-se os volumes com o mesmo diluente, homogeneizou-se e filtrou-se. Todas as demais diluições foram realizadas em água.

## **PARÂMETROS ANALÍTICOS**

Os seguintes parâmetros analíticos foram avaliados na validação do método para a determinação de teor de gliclazida em comprimidos.

### **Especificidade**

Prepararam-se soluções de gliclazida SQR e branco (sem analito), na concentração de 100 µg/mL, em acetonitrila. Traçou-se o espectro da cada solução na faixa de 200 nm a 400 nm e observou-se a presença de sinais na faixa do analito.

### **Intervalo e linearidade**

Três curvas analíticas foram preparadas, cada uma com sete níveis de concentração, a partir da solução estoque de gliclazida SQR. Alíquotas de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 mL foram transferidas para balões volumétrico de 50 mL e diluídas com água, de modo a obter soluções nas concentrações de 20 a 160 µg/mL. A equação da reta foi obtida pelo método dos mínimos quadrados e avaliada por Análise de Variância (BRASIL, 2003).

### **Limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ)**

O LD e o LQ da gliclazida foram determinados a partir da curva analítica e calculados como  $3x_s/S$  e  $10x_s/S$ , onde  $s$  é o desvio padrão do intercepto com o eixo  $y$  de 3 curvas analíticas e  $S$  é a inclinação da curva analítica.

### **Precisão**

A repetibilidade foi determinada partindo-se de três tomadas de ensaio de 40 mg de gliclazida, obtendo-se soluções nas concentrações de 40, 80 e 120 µg/mL, realizadas no mesmo dia e pelo mesmo analista. A precisão intermediária foi obtida pela análise da amostra em três dias diferentes, por dois analistas diferentes, na concentração de 80 µg/mL. Mediram-se as absorbâncias das soluções em 244 nm, utilizando-se água para ajuste do zero. Calculou-se a quantidade de gliclazida presente nos comprimidos, a partir da equação da reta,

obtida na curva analítica. A partir dos resultados calculou-se o Desvio Padrão (DP) e o Desvio Padrão Relativo (DPR) e os dados foram comparados por Análise de Variância (BRASIL, 2003).

### Exatidão

A exatidão expressa, em porcentagem, foi avaliada a partir da adição e recuperação de quantidades conhecidas de gliclazida SQR na amostra. Foram preparadas soluções nas concentrações finais de 40, 60, 80, 100 e 120 µg/mL, sendo a concentração da amostra constante de 40 µg/mL. A recuperação de 98% a 102% é recomendada para a exatidão do método (ICH).

### Robustez

O planejamento do teste de robustez foi realizado de acordo com Youden e Steiner, que permite não só avaliar a robustez do método, como também ordenar a influência de cada uma das variações nos resultados finais (Tabela 1) (INMETRO, 2003).

**Tabela 1** - Matriz de fatores para a determinação da robustez do método.

Valor do fator	Combinação							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Comprimento de onda	A	A	A	A	a	a	a	A
Tempo de agitação	B	B	b	b	B	B	b	b
Tamanho da amostra	C	c	C	c	C	c	C	c
Alíquota de transferência	D	D	d	d	d	d	D	D
Resultado	s	t	u	v	w	x	y	z

Conforme descrito na figura 2, os parâmetros alterados para a avaliação da robustez foram: comprimento de onda (244 nm): **A** (243 nm) e **a** (245 nm); tempo de agitação (40 minutos): **B** (30 minutos) e **b** (45 minutos); tamanho da amostra (40 mg): **C** (30 mg) e **c** (45 mg); volume da alíquota de transferência (5 ml): **D** (2,5 ml) e **d** (10 ml). Concentrações de gliclazida presentes nas amostras foram determinadas a partir da curva analítica.

Os parâmetros **A**, **a**, **B**, **b**, **C**, **c**, **D** e **d** foram calculados a partir das eq. de 1 a 8:

$$A = (s + t + u + v) / 4 \quad (1) \qquad a = (w + x + y + z) / 4 \quad (5)$$

$$B = (s + t + w + x) / 4 \quad (2) \qquad b = (u + v + y + z) / 4 \quad (6)$$

$$C = (s + u + w + y) / 4 \quad (3) \qquad c = (t + v + x + z) / 4 \quad (7)$$

$$D = (s + t + y + z) / 4 \quad (4) \qquad d = (u + v + w + x) / 4 \quad (8)$$

O método é robusto se as condições 1 e 2 forem atendidas:

*Condição 1* (para parâmetro A e demais parâmetros)

Teor de gliclazida (média dos valores obtidos no estudo da precisão intermediária) - 5% deste valor  $\leq A \leq$  teor de gliclazida + 5% deste valor

*Condição 2* (para parâmetro A e demais parâmetros)

A - a  $\leq$  3% do teor de gliclazida

## COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS ANALÍTICAS

A monografia de gliclazida comprimidos encontra-se descrita apenas na British Pharmacopoeia, 2008 que utiliza o método por CLAE para a sua quantificação, com as seguintes condições cromatográficas: coluna C8 de 25 cm; fase móvel: trietanolamina, ácido trifluoracético, acetonitrila, água (0,1:0,1:45:55), fluxo de 0,9 mL/min; detector na região do ultravioleta a 235 nm e volume de injeção de 20  $\mu$ L; a amostra e SQR nas concentração de 200  $\mu$ g/mL. As análises foram realizadas em triplicata.

O método validado foi comparado com o método oficial, utilizando-se os seguintes programas estatísticos: Graphpad Instat (versão 3.00) e Origin (versão 5.00).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA

De todos os solventes testados, a combinação que apresentou melhores resultados e interferência mínima dos excipientes foi a de acetonitrila e água.

### Condições espectrofotométricas

Na tabela 2 encontram-se descritas as condições espectrofotométricas escolhidas.

**Tabela 2** - Resumo das condições espectrofotométricas escolhidas para a análise quantitativa de gliclazida.

Quantidade de ativo no ensaio	40 mg
Diluyente inicial	Acetonitrila
Diluyente final	Água
Concentração de trabalho	80 $\mu$ g/mL
Comprimento de onda	244 nm

### Especificidade

A especificidade do método foi avaliada com base na pesquisa de possíveis interferentes na determinação quantitativa da gliclazida. De acordo com os espectros obtidos para a SQR e branco (figura 2), constatou-se que o método foi específico, não havendo interferência dos excipientes no comprimento de onda máxima de absorção.

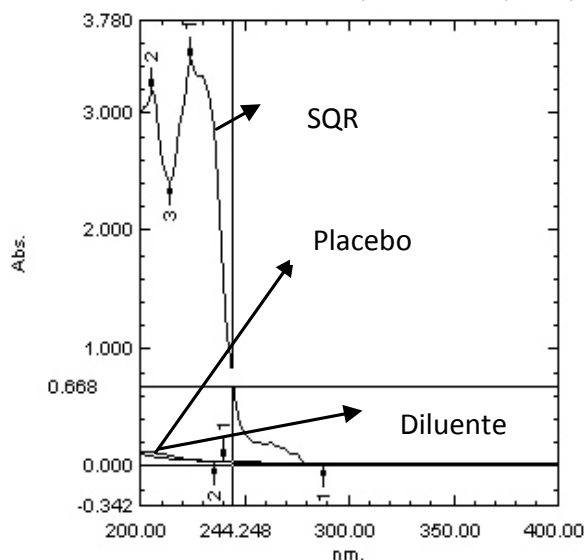


Figura 4 - Espectros de absorção, na faixa de 200 a 400 nm, da gliclazida SQR, do branco simulado e do diluente.

### Intervalo e linearidade

O intervalo e a linearidade foram obtidos através da elaboração da curva analítica. Segundo a RE 899/2003, o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação é de 0,99, sendo obtido o valor de 0,998 para o intervalo e de 0,999 para a curva analítica. A curva obtida demonstrou que os resultados são diretamente proporcionais à concentração do analito, na faixa de 40  $\mu\text{g/mL}$  a 120  $\mu\text{g/mL}$ , podendo ser utilizada para a interpolação dos valores obtidos com a solução amostra (Figura 3). O estudo da análise de variância (BRASIL, 2003), da curva analítica demonstrou que a mesma apresenta regressão linear significativa, não havendo desvio de linearidade significativo ( $p = 0,05$ ).

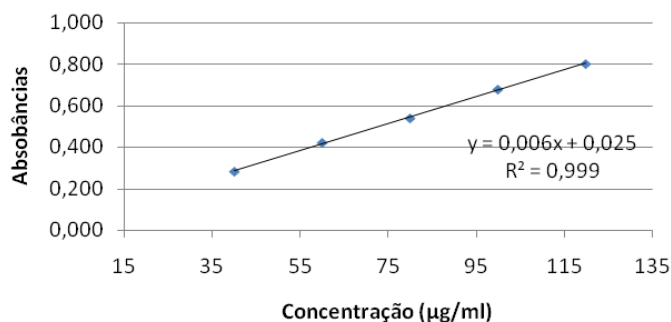


Figura 3 - Representação gráfica da curva analítica e da equação da reta da gliclazida, obtida pelo método espectrofotométrico na região do ultravioleta.

### Limite de detecção e limite de quantificação

A sensibilidade do método espectrofotométrico foi avaliada através da determinação dos limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) da gliclazida. Os valores obtidos para o LD e LQ foram de 6,32  $\mu\text{g/mL}$  e 18,99  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, indicando boa sensibilidade do método na concentração de trabalho escolhida.



## Precisão

A precisão do método analítico determina o grau de concordância entre resultados de medidas independentes em torno de um valor central, efetuada várias vezes em uma amostra homogênea. O valor de DPR (%), preconizado para este estudo é de 2%, segundo a The United States Pharmacopeia (2009), e de 5%, segundo a resolução RE nº 899/2003 (RIBANI et al., 2004). Conforme descrito na tabela 3, o valor médio encontrado para a repetibilidade foi de 99,55% e desvio padrão relativo de 0,43%.

**Tabela 3** - Resultados obtidos na análise da repetibilidade do método espectrofotométrico no UV para comprimidos de gliclazida.

Concentração da amostra (µg/ml)	Teor (%)	Média ± desvio padrão	DPR (%)
40	98,73	99,31 ± 0,72	0,72
	99,09		
	100,11		
80	99,50	99,76 ± 0,28	0,28
	100,06		
	99,73		
100	99,89	99,59 ± 0,30	0,30
	99,29		
	99,60		
<b>ANOVA</b>		<b>F calculado</b>	<b>F tabelado*</b>
Entre concentrações		0,69	5,14

\* ( $p=0,05$ )

A precisão intermediária foi determinada em três dias diferentes por dois analistas. Os valores experimentais obtidos para as determinações da precisão intermediária da gliclazida encontram-se descritos na tabela 2. O desvio padrão relativo médio, para este ensaio foi de 0,47%.

**Tabela 4** - Resultados obtidos na análise da precisão intermediária do método espectrofotométrico no UV para comprimidos de gliclazida.

Dia	n	Analista 1 Teor (%)	Analista 2 Teor (%)	Média ± desvio padrão	DPR (%)
1	1	99,09	100,15	99,53 ± 0,47	0,47
	2	100,06	99,48		
	3	99,29	99,09		
2	1	98,90	99,67	99,54 ± 0,45	0,45
	2	99,67	99,09		
	3	100,06	99,86		
3	1	100,25	99,09	99,80 ± 0,54	0,54
	2	99,29	100,06		
	3	99,67	100,44		
<b>ANOVA</b>				<b>F calculado</b>	<b>F tabelado*</b>
Inter-dias				0,59	3,68
Inter-dias analista 1				0,19	5,14
Inter-dias analista 2				0,30	5,14

\* ( $p=0,05$ )

Os resultados obtidos na determinação da repetibilidade e da precisão intermediária foram avaliados estatisticamente por análise de variância (BRASIL, 2003), a fim de determinar se existe diferença significativa entre as respostas obtidas nas diferentes concentrações e dias analisados. Conforme demonstrado nas tabelas 2 e 3, o  $F_{\text{calculado}}$  foi menor do que o  $F_{\text{tabelado}}$ , indicando que não há diferença significativa entre os resultados encontrados ( $p=0,05$ ). Esta análise foi realizada no sentido de complementar a avaliação do ensaio, porém cabe ressaltar que os critérios que estabelecem o aceite da precisão do método estão preconizados na Resolução RE n° 899, anteriormente citada.

### Exatidão

A exatidão do método analítico representa o grau de concordância entre o valor médio obtido de uma série de resultados e o valor de referência aceito. Os resultados experimentais médios, obtidos para os testes de exatidão, por recuperação, estão descritos na tabela 5. Os limites preconizados para este teste são de 98% a 102%.

**Tabela 5** - Resultados obtidos na análise da exatidão do método espectrofotométrico no UV para comprimidos de gliclazida.

Amostra	Concentração final	Média da quantidade de SQR recuperada*	
		( $\mu\text{g/mL}$ )	(%)
R1	60	59,69	99,49
R2	80	80,31	100,38
R3	100	101,07	101,07
R4	120	120,92	100,76

De acordo com os resultados obtidos verifica-se que para todas as concentrações experimentais utilizadas os teores percentuais de recuperação encontram-se dentro dos limites especificados, o que permite concluir a adequada exatidão do método.

### Robustez

A robustez do método indica sua capacidade em fornecer resultados inalterados quando sujeito a pequenas e deliberadas alterações no método analítico. O método é robusto se as condições abaixo descritas forem atendidas:

*Condição 1* (para parâmetro A e demais parâmetros)

Teor de gliclazida - 5% deste valor  $\leq A \leq$  Teor de gliclazida + 5% deste valor

99,62% - 5% deste valor  $\leq A \leq$  99,62% + 5% deste valor

94,64%  $\leq A \leq$  104,60%

Condição 2 (para parâmetro A e demais parâmetros)

A – a  $\leq$  3% do teor de gliclazida

A – a  $\leq$  3% 99,62%

A – a  $\leq$  2,99%

Conforme podemos observar nas tabelas 6 e 7, o método atendeu as condições 1 e 2, sendo portanto considerado robusto.

**Tabela 6** - Combinações ensaiadas para a avaliação da robustez do método espectrofotométrico no UV para comprimidos de gliclazida examinando-se a condição 1.

Combinação ensaiada								
Resultados	s	t	u	v	w	x	y	z
Teor (%)	99,6%	100,0%	99,8%	99,0%	99,5%	100,0%	100,1%	99,6%
Faixa aceitável de teor de Gliclazida (99,62% $\pm$ 5%) = 94,64% $\leq$ A $\leq$ 104,60%								

**Tabela 7** - Combinações ensaiadas para a avaliação da robustez do método espectrofotométrico no UV para comprimidos de gliclazida examinando-se a condição 2.

Teor de gliclazida		Diferenças	Limite para diferenças (3% * 99,62%)	
<b>A (%)</b> 99,64	<b>a (%)</b> 99,82	<b>A – a (%)</b> -0,18	2,99%	Robusto
<b>B (%)</b> 99,81	<b>b (%)</b> 99,65	<b>B – b (%)</b> 0,16	2,99%	Robusto
<b>C (%)</b> 99,80	<b>c (%)</b> 99,66	<b>C – c (%)</b> 0,14	2,99%	Robusto
<b>D (%)</b> 99,86	<b>d (%)</b> 99,60	<b>D – d (%)</b> 0,26	2,99%	Robusto
<b>Média (%) (A, a, B, b, C, c, D, d)</b>		99,73		
<b>DP</b>		0,10		
<b>DPR (%)</b>		0,10		

### Comparação de metodologia

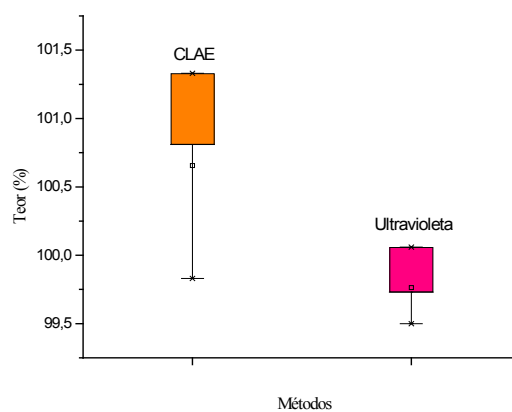
O método proposto apresenta diferenças significativas do método farmacopeico, no que tange a simplicidade, rapidez e custo. A espectrofotometria na região do ultravioleta é um método de fácil execução e custo relativamente baixo se comparado com a CLAE. A CLAE caracteriza-se por ser uma técnica versátil e amplamente utilizada possuindo a vantagem da automação, porém requer maior treinamento por parte do analista.

Para comparar a metodologia analítica desenvolvida, utilizaram-se os dados obtidos com a repetibilidade do método, na concentração de 80  $\mu$ g/ml, e os resultados do doseamento por CLAE. Aplicou-se, primeiramente o teste de Kolmogorov and Smirnov, para avaliar se todos os dados seguem uma

distribuição normal e logo após os valores foram comparados pelo teste t de Student, que não apresentou valores significativos para um intervalo de confiança de 95%. Na tabela 8 e na figura 4 encontram-se as médias, desvios padrões e os valores mínimos e máximos obtidos, com ambas as técnicas.

**Tabela 8** - Médias, desvios padrões e os valores mínimos e máximos obtidos na comparação de metodologias para a quantificação de gliclazida comprimidos.

Método	n	Teor (%)	Média	DP	DPR	Mínimo	Máximo
CLAE	1	100,81					
	2	99,83	100,66	0,76	0,76	99,83	101,33
	3	101,33					
UV	1	99,50					
	2	100,06	99,76	0,28	0,28	99,50	100,06
	3	99,73					



**Figura 4** - Representação gráfica da comparação dos métodos espectrofotométrico no UV e CLAE quanto aos valores mínimos e máximos obtidos.

## CONCLUSÃO

O método validado, por espectrofotometria de absorção no ultravioleta, mostrou-se específico, preciso, exato e robusto para a quantificação de gliclazida comprimidos e não apresentou diferença significativa, quando comparado ao método oficial, por CLAE, podendo ser utilizado com segurança. Possui as vantagens de economia e facilidade de execução, podendo ser utilizado durante o processo de produção, quando se necessitam de análises rápidas, para avaliar o teor e a uniformidade de conteúdo dos comprimidos.

## REFERÊNCIAS

ARAÚJO, L. M. B.; BRITO, M. M. S.; CRUS, T. R. P. Tratamento do diabetes tipo 2: novas opções. *Arquivo brasileiro de endocrinologia metabólica*, v. 44, n. 6, p. 509-518, 2000.

BRASIL, Ministério da Saúde **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Resolução RE nº 899 de 29.05.2003, 2003

BRITISH PHARMACOPOEIA. London: Her Majesty's Stationery Office, 2008. 1 CD-ROM.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução à métodos cromatográficos**. 7 ed. Campinas: Unicamp, 1997.

ERMER, J. Validation in pharmaceutical analysis. Part I: an integrated approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 24, p.755-767, 2001.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4 ed, São Paulo: Atheneu, 1988.

FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M. B. **Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional**. 3 ed. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2006.

GIL, E. S. **Controle físico-químico de controle de qualidade de medicamentos**. 2 ed. São Paulo: Pharmabooks, 2007.

ICH Harmonised Tripartite Guideline. **Validation of analytical procedures: Text and Methodology - Q2(R1) - Current Step 4 version Parent Guideline Dated 27 October 1994 (Complementary Guideline on Methodology dated 6 November 1996 incorporated in November 2005)** ICH Steering Committee. Commission of the European Communities, Geneva, 2005. Disponível em: < [www.emea.europa.eu/pdfs/human/ich/038195en](http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/ich/038195en)>. Acesso em: 01 out. 2007.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA. Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**; DOQ-CGCRE-008, Revisão: 01 - MARÇO/2003.

INZUCCHI, S. E. Management of hyperglycemia in the hospital setting. **N. Engl. J. Med.**, v. 355, p. 1903-1911, 2006.

KATZUNG, B. G. **Farmacologia básica e clinica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003, p. 628-634.

KOROLKOVAS, A. **Dicionário terapêutico guanabara 2008/2009**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

MEHTA, A. C. Quality management in drug analysis. **Analyst**, v. 12, p. 83 R–88 R, 1997.

OLIVEIRA, J. E. P.; MILECK, A. **Diabetes mellitus-clínica, diagnóstico, tratamento multidisciplinar**. São Paulo:Atheneu Editora, 2004.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

**THE MERCK INDEX**. 30<sup>th</sup>.ed. **Whitehouse Station**: Merck Research Laboratories, Merck&CO., INC. 2001, p. 948.