

UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO

BRENO SILVA MIGUES

**DETERMINAÇÃO DE SIBUTRAMINA EM CÁPSULAS
MANIPULADAS POR ESPECTROSCOPIA DE
ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL**

BAURU
2011

BRENO SILVA MIGUES

**DETERMINAÇÃO DE SIBUTRAMINA EM CÁPSULAS
MANIPULADAS POR ESPECTROSCOPIA DE
ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências e Exatas e Sociais Aplicadas como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Química, sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Márcia Ap. Zeferino Garcia.

BAURU
2011

M6363d

Migues, Breno Silva

Determinação de sibutramina em cápsulas manipuladas por espectroscopia de absorção na região do uv-visível / Breno Silva Migues -- 2011.

39f : il.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Aparecida Zeferino Garcia.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação em Química) - Universidade Sagrado Coração - Bauru - SP

1. Sibutramina. 2. Manipulação. 3. Espectroscopia. I. Garcia, Márcia Aparecida Zeferino. II. Título.

BRENO SILVA MIGUES

**DETERMINAÇÃO DE SIBUTRAMINA EM CÁPSULAS
MANIPULADAS POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA
REGIÃO DO UV-VISÍVEL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Centro de Ciências Exatas e Sociais Aplicadas da Universidade Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química sob a orientação da Prof^a. Dr^a. Márcia Ap. Zeferino Garcia.

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Márcia Ap. Zeferino Garcia (orientadora)
Universidade Sagrado Coração

Prof. Ms. Dorival Roberto Rodrigues
Universidade Sagrado Coração

Prof^a. Ms. Claudia Salomão Carlomagno de Paula
Universidade do Sagrado Coração

Bauru, 13 de junho de 2011

Dedico este trabalho aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus que me deu o dom da vida podendo estar aqui hoje realizando este trabalho.

Aos meus pais, Paulo e Dagmar, que hoje sou o que sou, tenho o que tenho, tudo isso graças a eles, pois sem eles não conseguiria realizar uns dos meus maiores sonhos que era o de fazer uma faculdade, amo vocês.

Ao meu irmão Alex com quem sempre posso contar, meu avô e minha avó, pessoas que amo demais.

Meus amigos e amigas João Paulo, Jonas, Adilson, Juarez e em especial duas grandes amigas Nayara e Cristiane, valeu o companheirismo, vou levar a amizade de vocês sempre comigo.

Ao Professor Dorival Roberto Rodrigues que antes de ser meu professor, foi meu parceiro e um grande amigo, muito obrigado pela força e pelas correções sugeridas.

A minha Professora Orientadora Márcia Aparecida Zeferino Garcia, onde juntos construímos a bendita curva analítica da sibutramina. Agradeço sua tranquilidade, seu incentivo, paciência desses 6 meses de orientação, muito obrigado Márcia.

Aos meus professores, que nos passaram todo conhecimento para que pudéssemos adquirir sabedoria e nos tornarmos grandes profissionais, com uns nos identificamos mais, outros menos, mas cada um com seu valor que devemos reconhecer!

Por fim as funcionárias, Andréia e Danubia, do laboratório que me ajudaram durante toda parte experimental desse trabalho.

“Não tentes ser bem sucedido, tenta antes ser um homem de valor”.
(Albert Einstein)

RESUMO

A sibutramina é classificada como um anorexígeno, sendo indicado para tratamento da obesidade e redução de peso corpóreo, em conjunto com exercícios e dieta. Atua diretamente no sistema nervoso estimulando a sensação de saciedade. Encontrada no Brasil comercialmente como Reductil® (Abbott), Plenty® (Medley), na forma de cloridrato de sibutramina monohidratado, além dos formulados pelas farmácias de manipulação. As principais apresentações farmacêuticas disponíveis no comércio são cápsulas de 10 e 15mg, de preparação industrial, e cápsulas obtidas por manipulação. Este trabalho tem como objetivo a determinação do medicamento sibutramina em cápsulas manipuladas com o emprego de espectroscopia na região do ultravioleta a fim de avaliar a qualidade dos medicamentos comercializados, através da determinação da concentração do fármaco, em três farmácias da cidade de Bauru – SP. Para esse estudo, amostras foram dissolvidas em água e metanol as medidas feitas a 220 nm. A linearidade obtida apresentou um coeficiente de correlação de 0,9989 para o intervalo analítico de 2,0 a 40,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. A repetitividade e a precisão apresentaram valores de coeficiente de variação de 2,4% e 9,0%. O método foi específico para quantificação do fármaco avaliando a interferência dos excipientes

Palavras-chave: Sibutramina. Manipulação. Espectroscopia.

ABSTRACT

Sibutramine is classified as an anorectic and is indicated for treatment of obesity and reduction of body weight, in conjunction with exercise and diet. Acts directly on the nervous system by stimulating satiety. Found in Brazil commercially as Reductil® (Abbott), Plenty® (Medley), in the form of sibutramine hydrochloride monohydrate, in addition formulated by compounding pharmacies. The major pharmaceutical preparations are commercially available capsules 10 and 15mg, industrial preparedness, and capsules obtained by manipulation. This study aims to determine the drug sibutramine capsules manipulated with the use of ultraviolet spectrophotometry to assess the quality of drugs marketed by determining the concentration of the drug, three pharmacies in the city of Bauru - SP. For this study, samples were dissolved in water and methanol measurements made at 220 nm. The linearity obtained showed a correlation coefficient of 0.9989 for the analytical range from 2.0 to 40.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. The repeatability and precision showed coefficients of variation of 2.4% and 9.0%. The method was sensitive enough to quantify the drug to evaluate the interference of the excipients.

Keywords: Sibutramine. Manipulation. Spectroscopy.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Concentrações de sibutramina.	35
Tabela 2 - Exatidão dos resultados obtidos para os três estabelecimentos avaliados.	36

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura química do cloridrato de sibutramina monoidratado.	13
Figura 2 - Funcionamento da sibutramina.	15
Figura 3 - Regiões do espectro eletromagnético.	18
Figura 4 - Dados de absorção para cromóforos isolados.	20
Figura 5 - Diagrama de um equipamento espectrofotométrico de feixe simples.	21
Figura 6 - Diagrama de um equipamento espectrofotométrico de varredura com feixe duplo.	22
Figura 7 - Lâmpada de tungstênio.	23
Figura 8 - Lâmpada de deutério.	24
Figura 9 - Monocromador de rede Czerny-Turner.	25
Figura 10 - Exemplos típicos de células disponíveis comercialmente para região do UV- visível.	26
Figura 11 - Diagrama de um tubo fotomultiplicador e uma fotografia.	27
Figura 12 - Relação entre absorvância e transmitância.	29
Figura 13 - Espectro de absorção para sibutramina.	32
Figura 14 - Espectro de absorção para "pool" excipiente.	33
Figura 15 - Curva analítica da sibutramina.	34

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	SIBUTRAMINA	12
2.1	CARACTERÍSTICAS FARMACOCINÉTICAS	13
2.2	EFEITOS COLATERAIS	14
2.3	CONTRA-INDICAÇÕES	14
2.4	INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS.....	15
2.5	SITUAÇÃO DA SIBUTRAMINA NO MERCADO	16
3	ANALISE INSTRUMENTAL	17
3.1	RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA	17
3.2	PROCESSOS DE ABSORÇÃO.....	18
3.2.1	Grupos Cromóforos	19
3.3	ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL.....	21
3.3.1	Fontes Espectroscópicas	22
3.3.2	Seletores de Comprimento de Ondas	24
3.3.3	Recipientes para Amostra	25
3.3.4	Detectores	26
4	A LEI DE BEER-LAMBERT NA ESPECTROSCOPIA	28
4.1	LIMITAÇÕES DA LEI DE BEER.....	29
5	MATERIAIS E MÉTODOS	30
5.1	MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	30
5.2	METODOLOGIA.....	30
5.2.1	Ensaio de Solubilidade	30
5.2.2	Preparação da Solução Estoque de Sibutramina	30
5.2.3	Preparação da solução de sibutramina para seleção do máximo de absorvância	30
5.2.4	Preparação da solução com uma mistura de excipientes	31
5.2.5	Construção da curva analítica da sibutramina	31
5.2.6	Preparação das soluções das amostras	31
6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	32
7	CONCLUSÃO	37
	REFERÊNCIAS	38

1 INTRODUÇÃO

Os anorexígenos são os medicamentos mais procurados nas farmácias tanto de manipulação como nas drogarias convencionais. Tais medicamentos têm a função de inibir o apetite. Porém, por apresentarem grandes efeitos colaterais são controlados e vendidos apenas sob prescrição médica.

A sibutramina, “um dos anorexígenos mais polêmicos” é um medicamento prescrito para emagrecer e controlar o peso aprovado pela FDA (Food and Drug Administration) em novembro de 1997. O medicamento passou a ser comercializado em fevereiro de 2008 com nome comercial de Meridia ®.

Hoje em dia no mercado brasileiro a sibutramina encontra-se com nomes comerciais como Reductil ® (Abbott), Plenty ® (Medley), na forma de cloridrato de sibutramina monoidratado, além dos formulados pelas farmácias de manipulação. As principais apresentações farmacêuticas disponíveis no comércio são cápsulas de 10 e 15mg, de preparação industrial, e cápsulas obtidas por manipulação.

A sibutramina é o primeiro agente antiobesidade de ação central que atua como inibidor da recaptação em duas vias neurotransmissoras. Produz seus efeitos terapêuticos, primeiramente, pela inibição de recaptação de noradrenalina (NA) e serotonina (5-HT) (BRAY et al., 1996. Tradução nossa).

O cloridrato de sibutramina monoidratado é comercializado em todo mundo, mais não se encontram facilmente metodologias descritas na literatura especializada para análise quantitativa desse fármaco.

O emprego de metodologia analítica eficiente e confiável é necessário nas diversas fases do desenvolvimento farmacêutico, tais como estudos de formulação e de estabilidade, controle de qualidade, e, também em testes farmacológicos e toxicológicos realizados em animais e humanos. As especificações mínimas de qualidade dos produtos farmacêuticos, desde a matéria-prima até a embalagem e, conseqüentemente, de todos os insumos utilizados na fabricação de todas as formas farmacêuticas são de competência legal e exclusiva das farmacopéias. Entretanto muitos fármacos, por serem de recente lançamento, não estão incluídos nesses códigos (DIEFENBACH et al., 2008).

Este trabalho tem como objetivo a determinação do medicamento sibutramina em cápsulas manipuladas com o emprego de espectrofotometria na região do ultravioleta a fim de avaliar a qualidade dos medicamentos comercializados, através da determinação da

concentração do fármaco, em três farmácias da cidade de Bauru – SP. Foi utilizado o método analítico validado por Diefenbach et al.,2008.

2 SIBUTRAMINA

A sibutramina atua como inibidor da recaptação em duas vias neurotransmissoras. Produz seus efeitos terapêuticos, primariamente, pela inibição da noradrenalina (NA) e da serotonina (5-HT) (BRAY et al., 1996. Tradução nossa).

A serotonina (5-hidroxitriptamina ou 5-HT) é um neurotransmissor produzido no cérebro a partir do aminoácido triptofano, atuando como vasoconstritor, estimulador da musculatura lisa, regulador de sono, do apetite e do humor. Ao inibir a recaptação da serotonina, aumenta-se sua concentração, diminuindo a ansiedade e aumentando a saciedade. Portanto, a sibutramina atua através de dois mecanismos: aumentando o gasto energético e diminuição de apetite (CHAPELOT et al., 2000. Tradução nossa).

Noradrenalina é um hormônio liberado pela glândula supra-renal e serve também como precursor da adrenalina, tendo como principais efeitos: elevação do metabolismo, aumentando a frequência cardíaca e da pressão arterial. Ao evitar a recaptação da noradrenalina na fenda sináptica (por onde percorre o estímulo nervoso) a sibutramina potencializa os efeitos deste hormônio, aumentando o gasto energético (HANSEN et al., 1999. Tradução nossa).

Estudos demonstram que o mecanismo de ação por inibição de recaptação por duas vias resulta na diminuição do peso corporal, diminuindo a ingestão de alimentos mediante a intensificação da saciedade pós-prandial (após a refeição) e por reduzir a fome. Adicionalmente, previne o declínio do gasto energético que segue a perda de peso. (HALFORD et al., 1994; STRICKER et al., 1996. Tradução nossa).

A ingestão do medicamento deve ser administrada simultaneamente com exercícios físicos e alimentação adequada. (STOCK et al., 1997; HANSEN et al., 1999. Tradução nossa).

A sibutramina é uma amina terciária que sofre desmetilação rápida ao ser ingerida e vem sendo usada para o tratamento da obesidade. A seguir forma-se metabólito 2, que é uma amina primária e ambos tem atividade farmacológica (CHEN et al., 2002. Tradução nossa).

A seguir estão descritas alguns dados físico-químicos de uma forma de comercialização da sibutramina.

- Nome químico: cloridrato de ciclobutanometanamina, 1-(4-clorofenil)-N,N-dimetil- α -(2-metilpropila), monoidratado;
- Fórmula molecular: $C_{17}H_{26}ClN \cdot HCl \cdot H_2O$;
- Peso molecular: 334,33u;
- Composição elementar: C 61,07%, H 8,74%, Cl 21,21%, N 4,19%, O 4,79%;
- Ponto de fusão: 193,0°C-195,5°C;
- Solubilidade: 2,9 mg/ml em água a pH 5,2.

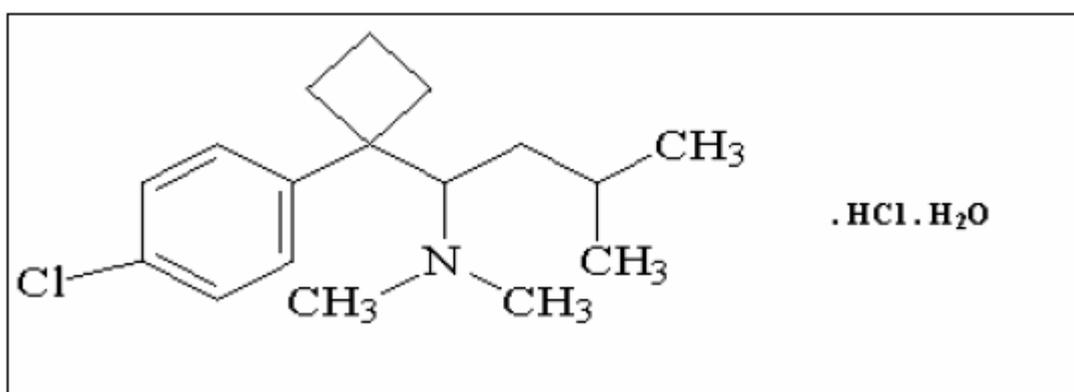


Figura 1 - Estrutura química do cloridrato de sibutramina monoidratado.
 Fonte: Diefenbach et al. (2008, p. 612).

2.1 CARACTERÍSTICAS FARMACOCINÉTICAS

Estudos demonstram que o cloridrato de sibutramina é rápida e eficientemente absorvida no trato gastrointestinal. Sofre pré-eliminação sistemática e biotransformação hepática através das isoenzimas do citocromo P450 principalmente 3 A4, produzindo dois metabólitos ativos (M_1 e M_2). Logo após sua administração oral, atinge concentração plasmática máxima em 1,2 hora. A sibutramina e seus metabólitos são amplamente distribuídos nos tecidos, altamente ligados à proteína plasmática e eliminados, principalmente pelas vias hepáticas e renal. Os seus metabólitos atingem concentração plasmática máximas em cerca de 3 horas, alcançando o estado de equilíbrio dentro de 4 dias. A ligação às proteínas plasmáticas é de 97% para sibutramina e 94% para seus metabólitos (M_1 e M_2). A meia-vida da sibutramina é 1,1 hora e dos metabólitos M_1 e M_2 de 14 e 16 horas, respectivamente. O metabolismo hepático é a principal via de eliminação da sibutramina e de seus metabólitos, principalmente, através da urina (BUCKETT , 1988. Tradução nossa).

2.2 EFEITOS COLATERAIS

Segundo Richter (1999) e Bray et al. (1996) os possíveis efeitos secundários da sibutramina são:

- Boca seca;
- Aumento da pressão;
- Dor de cabeça;
- Insônia;
- Fadiga;
- Vasodilatação;
- Taquicardia;
- Náusea;

2.3 CONTRA-INDICAÇÕES

O medicamento é contra indicado nos seguintes casos:

- Pessoas com bulimia nervosa, anorexia nervosa, depressão;
- Hipersensibilidade ao ingrediente ativo;
- Pacientes abaixo de 18 anos de idade;
- Uso simultâneo com inibidores da Monoamina Oxidase ou antidepressivos;
- Hipertensão;
- Hipertensão pulmonar;
- Lesões cardíacas, doenças coronárias, insuficiência cardíaca, arritmia e histórico de infarto no miocárdio;
- Hipertiroidismo;
- Glaucoma;
- Mulheres grávidas ou lactantes;

A figura a seguir resume as principais características do funcionamento da sibutramina:



Figura 2 - Funcionamento da sibutramina.
Fonte: Silveira (2010).

2.4 INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS

Com IMAOs (ex. fenelizina, tranilcipromida, selegilina), deve haver um intervalo de 2 semanas depois de descontinuar a sibutramina, para empregar o tratamento com um IMAO; com agentes serotoninérgicos há relatos de algumas reações fatais decorrentes de síndrome serotoninérgica; com agentes antieméticos existe risco de estimulação serotoninérgica excessiva e de efeitos aditivo. O uso concomitante com certos descongestionantes, antitussígenos e antialérgicos podem produzir aumento da pressão arterial e da pulsação. Risco de hipertensão e taquicardia por efeito farmacológico aditivo com supressores do apetite de ação central. A sibutramina é metabolizada pelo citocromo e não deve ser administrada com fármacos que inibem esta enzima, existindo o risco de aumento da biodisponibilidade da sibutramina por inibição do metabolismo da mesma.

2.5 SITUAÇÃO DA SIBUTRAMINA NO MERCADO

Em janeiro de 2010 a ANVISA (agência nacional de vigilância sanitária) divulgou um alerta para os profissionais da saúde sobre o uso da substância sibutramina no Brasil. A realização de um estudo denominado *Sibutramine Cardiovasculares Outcomes*, demonstrou aumento do risco cardiovascular não fatal nos pacientes tratados com a substância. (BRASIL, 2010).

O estudo indicou que o risco de se desenvolver enfermidades cardiovasculares aumenta em 16% nos pacientes que utilizaram o medicamento.

Com base no estudo, a agência regulatória da União Européia (EMA – European Medicine Agency) suspendeu a autorização de comercialização para o medicamento em toda União Européia. Nos Estados Unidos, não houve proibição da fabricação e venda da sibutramina. O FDA (Food and Drug Administration) solicitou a inclusão de novas contra-indicações na bula do produto, para informar que a sibutramina não deve ser usada em pacientes com história de doenças cardiovasculares.

No dia primeiro de julho de 2010 a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a RDC n° 25, que permite a prescrição de sibutramina para tratamentos de até 60 dias e especifica a Dosagem Diária Máxima (DDR) de 15 mg por dia da substância . A resolução complementa a RDC n° 13/10, que remanejou a substância da lista C1 (receita branca não numerada) para lista B2 (psicotrópico anorexígeno) da Portaria 344/1998.

3 ANÁLISE INSTRUMENTAL

3.1 RADIAÇÃO ELETROMAGNÉTICA

A radiação eletromagnética é uma forma de energia que se propaga em ondas, sendo que, no vácuo, se lança a uma velocidade de 300.000 km/s. Exemplos luz; micro-ondas; ultravioleta; ondas de radio; televisão entre outras.

De acordo com Skoog et al. (2008, p.671) “a radiação eletromagnética é uma forma de energia que é transmitida através do espaço a velocidades enormes”.

A radiação eletromagnética possui parâmetros ondulatórios devido algumas propriedades como comprimento de onda, frequência e velocidade e parâmetros corpusculares. Assim dizemos que tal energia possui característica dual.

Harris (2005, p. 435) acredita ser importante a descrição da luz em termo de partículas e ondas, define que: “ as ondas luminosas consistem em campos magnéticos e elétricos oscilantes, perpendiculares [...] O comprimento de onda, λ , é a distância entre a crista das ondas. A frequência, ν , é o numero de oscilações completas que a onda faz a cada segundo”. As unidades utilizadas para comprimento de onda nas regiões do ultravioleta/visível e frequência são, respectivamente, nanômetros ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$) e hertz ($10^6 \text{ Hz} = 1 \text{ MHz}$).

Referindo-se aos parâmetros corpusculares observamos seus fenômenos de absorção e emissão de energia radiante, considerando a radiação eletromagnética como “pacotes de energia” ou fótons que não podem ser fragmentados.

Essas formas de visualizar a radiação como partículas e como ondas não são mutuamente excludentes, mais sim complementares, e modo que a energia de um fóton é diretamente proporcional a sua frequência. (SKOOG et al., 2008).

As medidas baseadas na luz e outras formas de radiação eletromagnética são amplamente empregadas em química analítica. As interações da radiação com a matéria são o objeto de estudo da ciência da espectroscopia (SKOOG, 2008).

Os métodos espectroscópicos são baseados em medidas da quantidade de radiação produzida ou absorvida pelas moléculas ou pelas espécies atômicas de interesse.

Como afirma Skoog et al. (2008, p. 675) “os espectroscopistas empregam as interações da radiação com a matéria para obter informações sobre uma amostra. Muitos elementos químicos foram descobertos por meio da espectroscopia”.

Devido a relação entre química analítica e radiação eletromagnética, muitas pesquisas foram realizadas e novos modelos desenvolvidos para a determinação de várias estruturas moleculares.

A espectroscopia é hoje uma das ferramentas mais utilizadas para determinações quantitativas e qualitativas de compostos orgânicos e inorgânicos, também podendo explicar estruturas químicas.

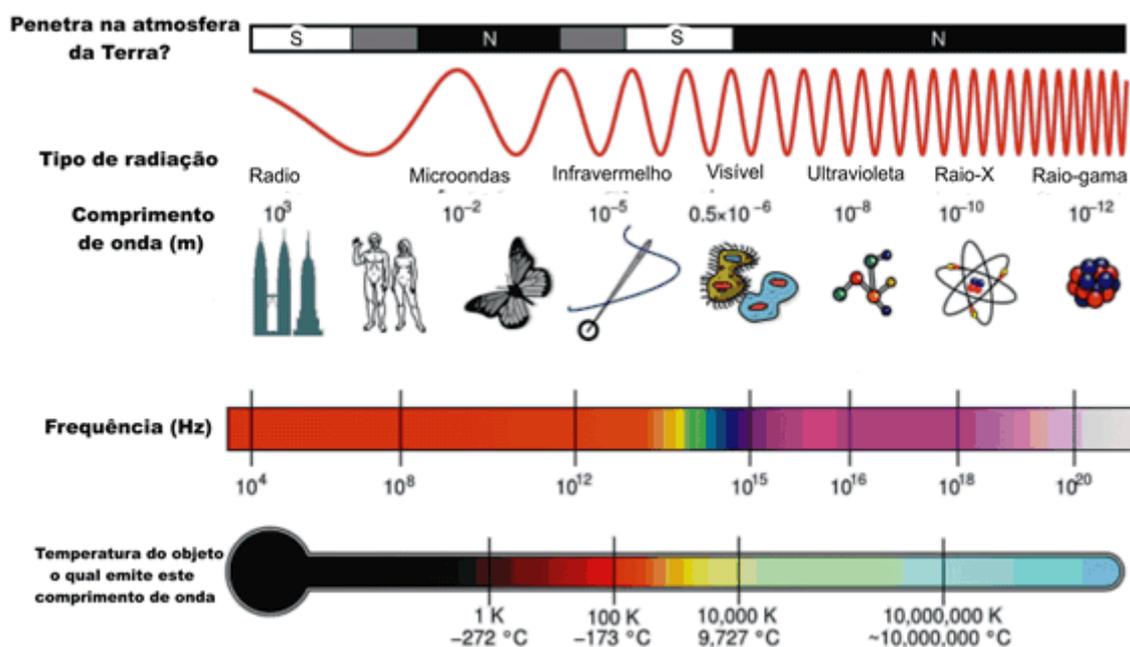


Figura 3 - Regiões do espectro eletromagnético.
Fonte: ESPECTRO (2008).

3.2 PROCESSOS DE ABSORÇÃO

Para um composto poder ser analisado por espectroscopia, ele deverá absorver a luz num certo comprimento de onda, e essa absorção deve ser diferente das outras substâncias presentes na amostra (HARRIS, 2005).

Silverstein et al. (1994, p.263) citam que “há uma vantagem na seletividade da absorção no ultravioleta: grupos característicos podem ser reconhecidos em moléculas de complexidade bastante variável”.

Quando uma molécula da amostra absorve um fóton sua energia aumenta e é promovida do estado fundamental para o estado excitado, produzindo estímulos variados em

suas moléculas. Conseguimos então obter informações sobre o analito decorrente dessa absorção de energia.

Essa intensidade da absorção pode ser descrita através da equação matemática em que transmitância (T) é definida pela intensidade de radiação emitida da amostra sobre a intensidade de energia radiante incidente multiplicada por 100.

$$T = \frac{P}{P_0}, \text{ onde:}$$

T: Transmitância

P₀: Intensidade de energia radiante que incide na amostra.

P: Intensidade de radiação que emerge da amostra.

Que também pode ser representada em escala logarítmica pela equação:

$$A = -\log T$$

A: Absorvância

T: Transmitância (valores entre zero e 1)

3.2.1 Grupos Cromóforos

Os cromóforos são grupos funcionais orgânicos insaturados que absorvem na região do ultravioleta ou visível (SKOOG et al., 2008).

A absorção de radiação por moléculas orgânicas na região do espectro visível e ultravioleta depende primeiramente do número e arranjo dos elétrons nas moléculas ou íons absorventes.

Os compostos que possuem duplas ligações e aqueles que possuem duplas conjugadas absorvem fortemente na região do visível e ultravioleta, pois quanto maior for o sistema de duplas, maiores serão os comprimentos de onda em que ocorre a absorção.

Os elétrons envolvidos em ligações duplas e triplas das moléculas orgânicas não estão fortemente presos sendo, portanto, mais fáceis de serem excitados pela radiação; assim as

espécies com ligações insaturadas geralmente exibem picos de absorção úteis (SKOOG et al., 2008).

A tabela abaixo lista alguns cromóforos comuns e os comprimentos de onda aproximados nos quais eles absorvem:

Características de Absorção de Alguns Cromóforos Orgânicos Comuns				
Cromóforos	Exemplo	Solvente	$\lambda_{\text{máx}}$ nm	$\epsilon_{\text{máx}}$
Alceno	$\text{C}_6\text{H}_{13}\text{CH}=\text{CH}_2$	<i>n</i> -Heptano	177	13.000
Alceno conjugado	$\text{CH}_2=\text{CHCH}=\text{CH}_2$	<i>n</i> -Heptano	217	21.000
Alcino	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{C}\equiv\text{C}-\text{CH}_3$	<i>n</i> -Heptano	178	10.000
			196	2.000
Carbonila	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3\text{CCH}_3 \end{array}$	<i>n</i> -Hexano	186	1.000
			280	16
Carboxila	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3\text{CH} \end{array}$	<i>n</i> -Hexano	180	Alta
			293	12
Amido	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{CH}_3\text{CNH}_2 \end{array}$	Água	214	60
Azo	$\text{CH}_3\text{N}=\text{NCH}_3$	Etanol	339	5
Nitro	CH_3NO_2	Isocianato	280	22
Nitroso	$\text{C}_4\text{H}_9\text{NO}$	Éter etílico	300	100
			665	20
Nitrato	$\text{C}_2\text{H}_5\text{ONO}_2$	Dioxano	270	12
Aromático	Benzeno	<i>n</i> -Hexano	204	7.900
			256	200

Figura 4 - Dados de absorção para cromóforos isolados.

Fonte: Skoog et al. (2008, p.745).

3.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO UV-VISÍVEL

Devido ao avanço tecnológico proporcionado por estudos para aperfeiçoar as técnicas espectroscópicas, existem vários modelos de espectrofotômetro com preços variáveis dependendo das necessidades. Alguns são projetados para cobrir a região do ultravioleta e do visível.

Os espectroscopia para a região do ultravioleta e visível geralmente possuem um alcance de 165 a 1000 nm. (EWING, 1972).

O aparelho de espectrofotometria de absorção UV/VIS é composto basicamente por cinco partes:

- 1 - Uma fonte de energia radiante
- 2 - Um seletor de comprimento de onda
- 3 - Recipiente de amostra
- 4 - Detector de radiação
- 5 – Sistema registrador

A figura abaixo apresenta um esquema de um equipamento de espectroscopia de UV/Visível.

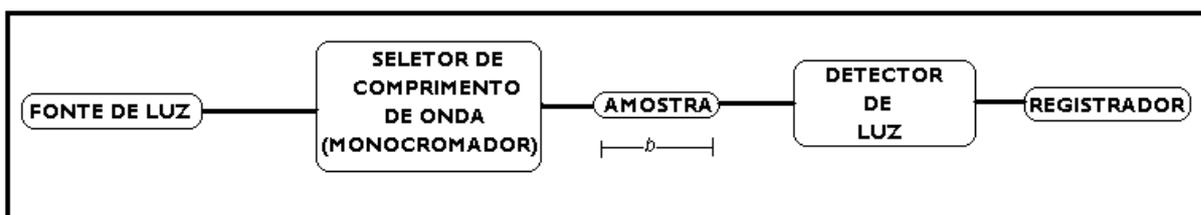


Figura 5 - Diagrama de um equipamento espectrofotométrico de feixe simples.
Fonte: Elaborado pelo autor.

A luz proveniente de uma fonte contínua, que emite vários comprimentos de onda, é separada em vários intervalos por um monocromador ou rede de difração. A luz monocromática passa pela amostra, que se encontra em uma célula, de comprimento “b” e a energia radiante da luz é medida por um detector.

Um Instrumento de feixe simples possui apenas um feixe de luz, a energia radiante incidente não é medida diretamente. A radiação que passa pela cubeta de referência contendo

o branco (contém apenas os reagentes) é medida e em seguida a cubeta é retirada e substituída por outra contendo a amostra.

Esse aparelho embora mais simples, exige procedimentos analíticos mais trabalhosos, pois a amostra e a referência devem ser colocadas alternadamente no feixe.

Entre uma leitura da amostra e a outra deve-se colocar a referência para calibrar o aparelho garantindo que a calibração inicial mantenha-se até o final.

Já no espectrofotômetro de feixe duplo, a luz passa alternadamente pelas cubetas da amostra e de referência (branco), direcionada por um motor chamado chopper, que gira um espelho para dentro e para fora do caminho da luz. Quando o divisor rotatório não está desviando o feixe de luz, a radiação passa pela amostra e o detector mede a energia radiante. Quando o modulador desvia a radiação para a referência, o detector mede a energia radiante incidente.

O feixe é desviado várias vezes por segundo, e a calibração é feita automaticamente, medindo a transmitância e absorvância.

Esse processo proporciona correção automática das mudanças da intensidade da fonte e da sensibilidade do detector com o tempo e o comprimento de onda. Também proporciona uma varredura automática do comprimento e um registro contínuo da absorvância.

Segundo Harris (2005, p. 452) “um procedimento de rotina em um espectrofotômetro de feixe duplo é obter inicialmente uma linha de base usando-se a solução de referência em ambas as cubetas. O valor da absorvância da linha de base, em cada comprimento de onda, é então subtraído do valor da absorvância medindo para amostra, de modo a se obter o valor real da absorvância da amostra em cada comprimento de onda”.

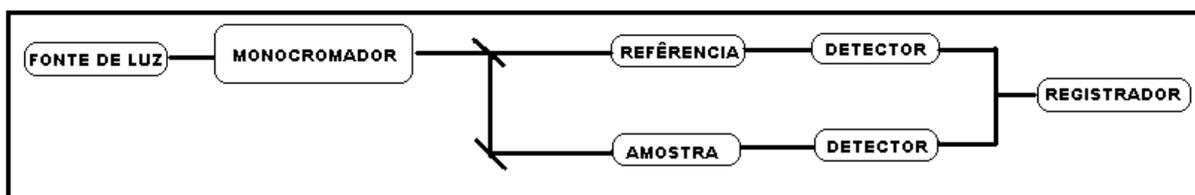


Figura 6 - Diagrama de um equipamento espectrofotométrico de varredura com feixe duplo.
Fonte: Elaborado pelo autor.

3.3.1 Fontes Espectroscópicas

As fontes de radiação eletromagnética geralmente são lâmpadas de um elemento químico capaz de emitir radiação eletromagnética de maneira eficiente e contínua.

De acordo com Skoog et al., (2008, p. 706) “as fontes espectroscópicas são de dois tipos: fontes contínuas, as quais emitem radiação cuja intensidade se altera lentamente em função do comprimento de onda e fontes de linhas, as quais emitem um número limitado de linhas espectrais, cada uma delas abrangendo uma região muito estreita de comprimento de onda, podendo ser classificados como ininterruptas (contínuas, no sentido de que sua emissão não é interrompida com o tempo) e pulsadas, que emite radiação periodicamente interrompida”.

As fontes de radiação eletromagnética num instrumento de espectroscopia operam especialmente na região do visível e outras na região do ultravioleta.

Segundo Skoog et al., (2008, p.707). “As mais largamente empregadas na faixa do UV/VIS são as lâmpadas de tungstênio que existem comprimentos de onda de 320 a 2500 nm, operando numa temperatura cerca de 2900K, a qual produz radiação útil a partir de cerca de 320 até 2.200 nm”.

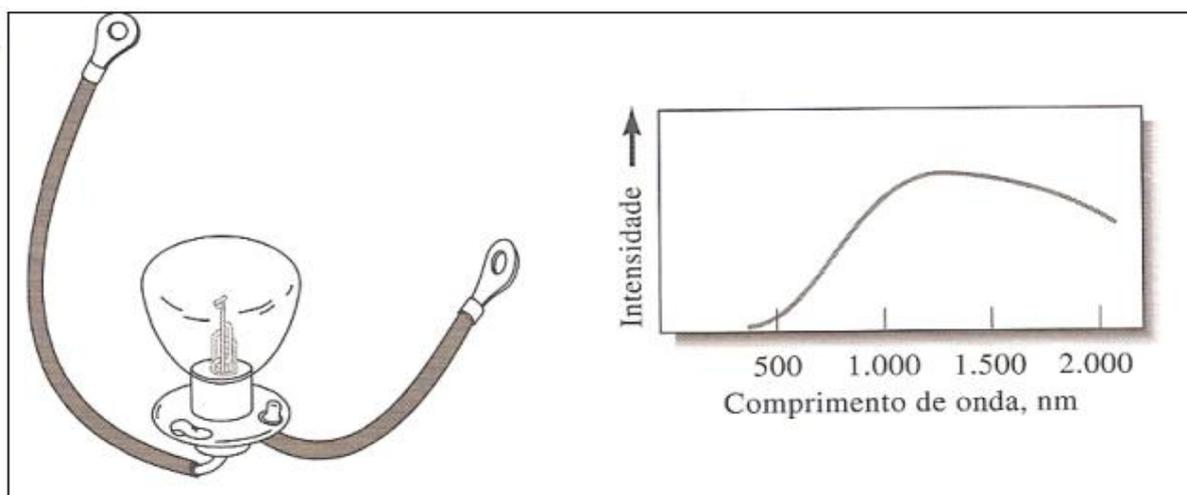


Figura 7 - Lâmpada de tungstênio.

Fonte: Skoog (2008, p. 707).

Nota: A intensidade atinge o máximo na região do infravermelho próximo do espectro (~ 1.200 nm, nesse caso).

As lâmpadas de deutério e também de hidrogênio são frequentemente empregadas para fornecer radiação contínua da região do UV. Uma lâmpada de deutério consiste em um tubo cilíndrico que contém deutério a baixa pressão com uma janela de quartzo para saída de radiação. (SKOOG et al., 2008).

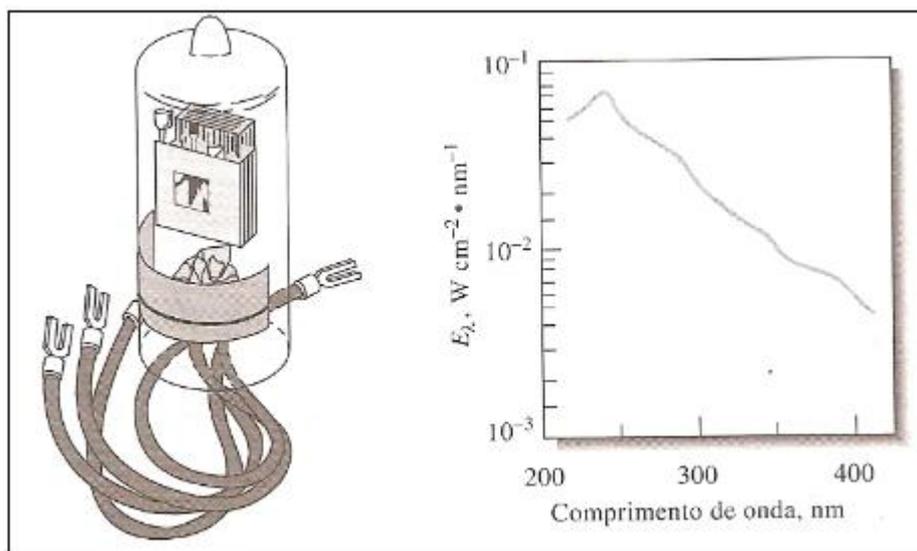


Figura 8 - Lâmpada de deutério.

Fonte: SKOOG, 2008, p. 708.

Nota: a intensidade máxima ocorrendo a $\sim 225\text{nm}$.

3.3.2 Seletores de Comprimento de Ondas

Conhecido também como monocromadores, esses componentes restringem a radiação que está sendo emitida pela fonte, melhorando a seletividade e sensibilidade do instrumento.

Além disso, para as medidas de absorvância as bandas estreitas de radiação reduzem bastante a chance de desvio na lei de Beer oriundos do uso de radiação.

Para Skoog (2008, p.711) “muitos instrumentos empregam um monocromador ou um filtro para isolar a banda de comprimento de onda desejada de forma que somente essa banda de interesse seja detectada.

Estes dispositivos podem possuir uma grade de difração para dispersar a radiação em vários comprimentos de onda.

A rede de difração é formada por uma série de ranhuras paralelas muito próximas, separadas por uma mesma distância d , a rede é recoberta com alumínio para torná-la refletora. Além de possuírem espelhos côncavos que colimam os feixes de entrada e focalizam a banda selecionada para a saída.

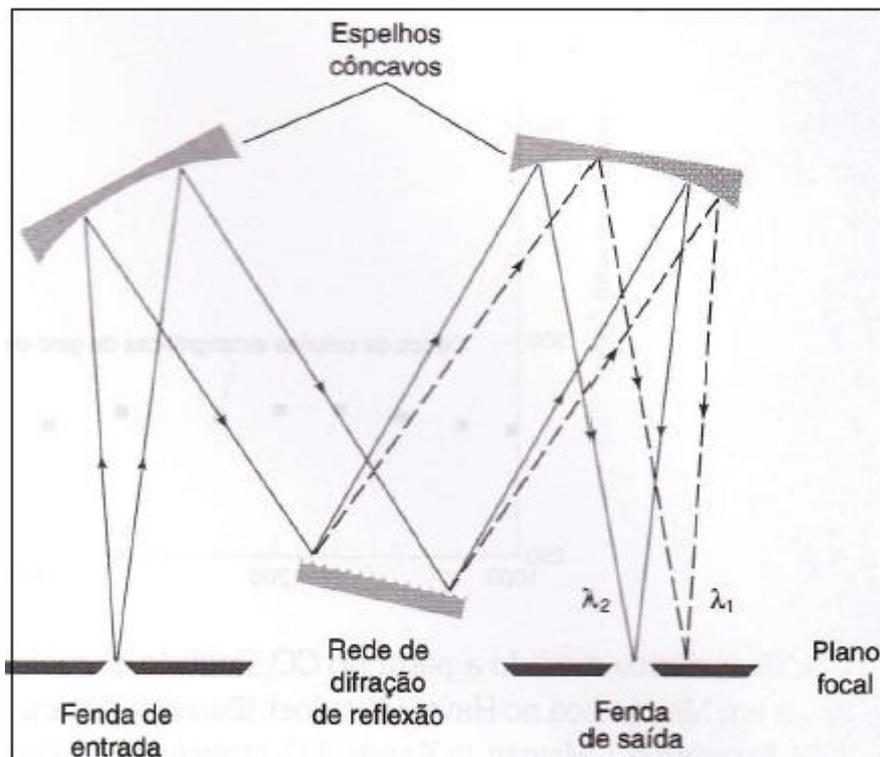


Figura 9 - Monocromador de rede Czerny-Turner.
 Fonte: HARRIS, 2005, p. 458.

3.3.3 Recipientes para Amostra

Denominados de células ou cubetas são os recipientes onde as amostras deverão ficar, devem ter janelas que sejam transparentes na região espectral de interesse.

O quartzo e a sílica fundida (SiO_2) são os materiais utilizados na confecção de cubetas necessárias para análises na região do UV (comprimentos de onda menores que 350nm). Podem ser empregadas na região do visível e cerca de 3.000nm na região do IV. As células de plástico são também utilizadas na região do visível. (SKOOG et al., 2008).

O material utilizado para a cubeta deve ser escolhido corretamente, dependendo assim da região espectral em análise, pois cubetas porta amostra de vidro silicato não são utilizadas em análises ultravioletas, devido a sua absorção de comprimentos de ondas nesta região, sendo mais úteis, neste caso, as cubetas de quartzo.

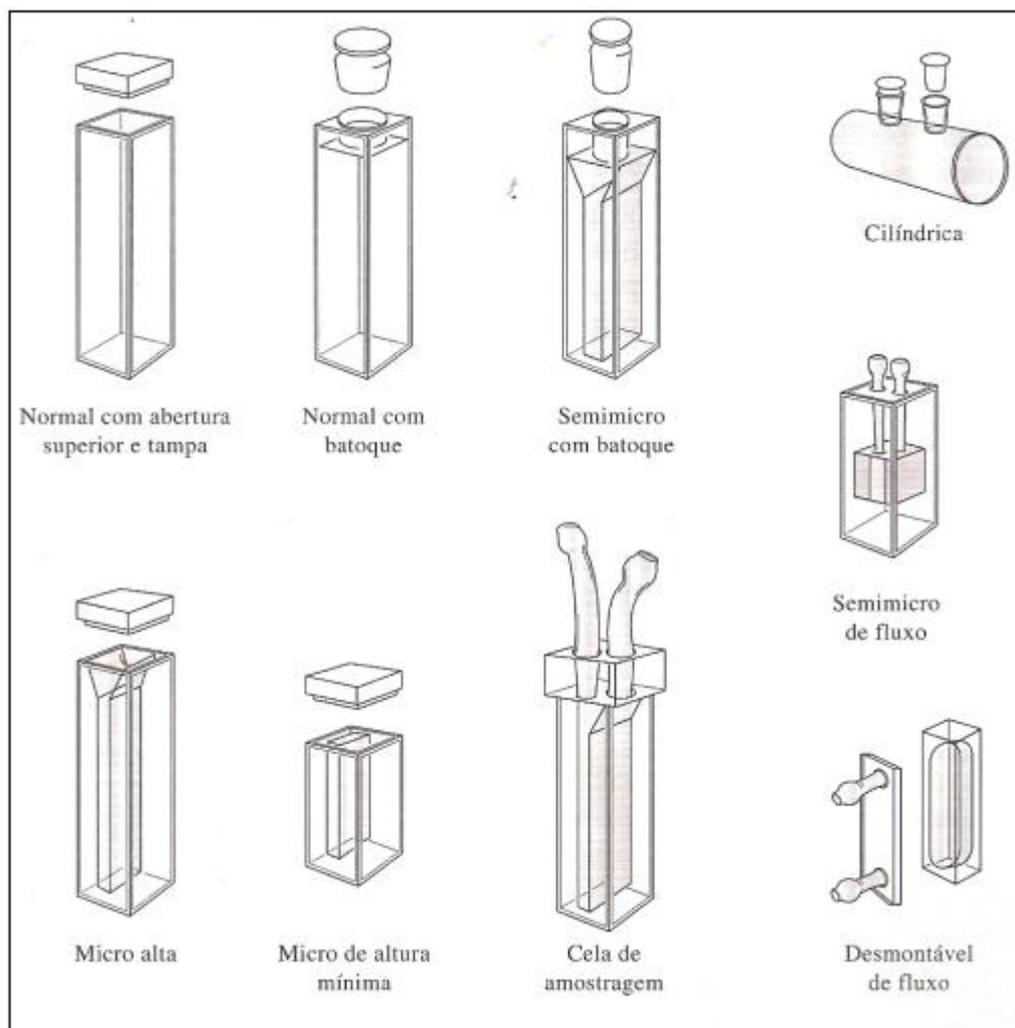


Figura 10 - Exemplos típicos de células disponíveis comercialmente para região do UV-visível. Fonte: SKOOG, 2008, p.729.

3.3.4 Detectores

Existem vários detectores no mercado, sendo que cada um com seu princípio de funcionamento. Todos porém têm mesma função: produz um sinal elétrico quando é atingido por fótons.

Para Skoog et al. (2008, p. 719) “[...] um detector é um dispositivo que indica a existência de algum fenômeno físico”.

“A resposta de um detector é uma função do comprimento de onda da radiação incidente”. (HARRIS, 2005, p. 462).

Tais detectores podem ser: como fototubos; tubos fotomultiplicadores; os fotodiodos e os arranjos de fotodiodos.

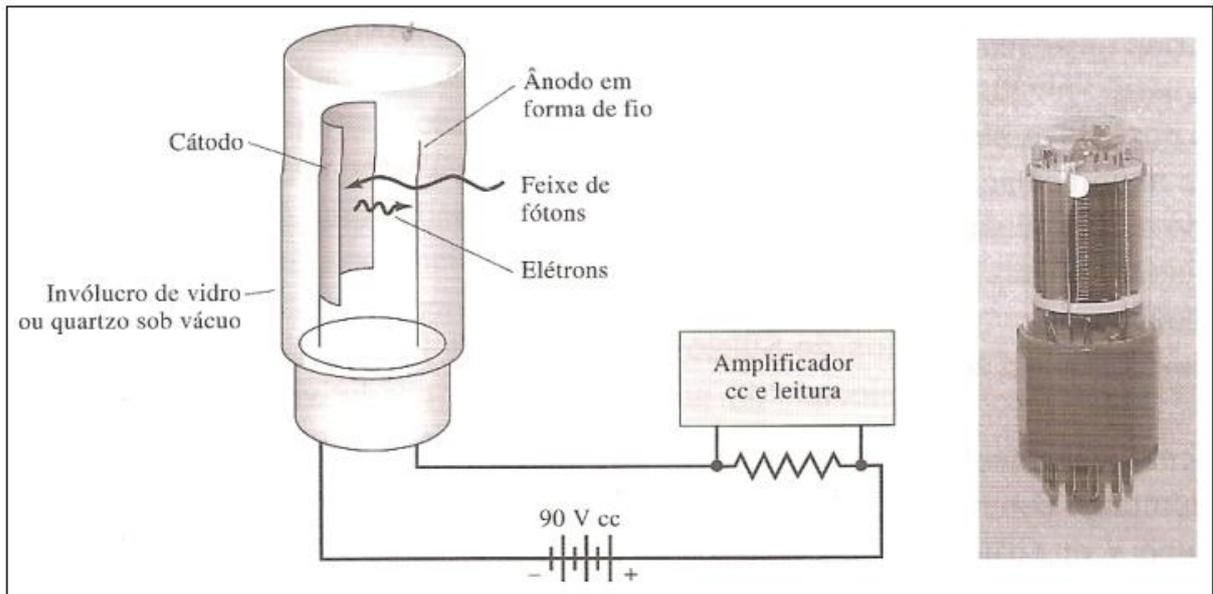


Figura 11 - Diagrama de um tubo fotomultiplicador e uma fotografia.
Fonte: SKOOG, 2008, p.723.

4 A LEI DE BEER-LAMBERT NA ESPECTROSCOPIA

A lei de Beer- Lambert é a relação entre a concentração do analito, absorvância e o comprimento do caminho óptico pela amostra.

A lei estabelece que a absorvância é diretamente proporcional à concentração da espécie absorvente e o caminho óptico percorrido pela radiação eletromagnética na amostra.

Vista como o coração da química analítica, Skoog et al., (2008, p. 678) a define como: “A lei de absorção, também conhecida como lei de Beer-Lambert ou somente como lei de Beer, nos diz quantitativamente como a grandeza da atenuação depende da concentração das moléculas absorventes e da extensão do caminho sobre o qual ocorre a absorção”.

A lei de Beer-Lambert pode ser escrita matematicamente na expressão abaixo:

$$A = a b c \quad \text{ou} \quad A = \epsilon b M$$

Onde:

A: absorvância

a: absortividade

b: comprimento do caminho óptico

c: concentração

Σ : absortividade molar, utilizada por convenção quando **b** é medido em cm e **c** em mol.L⁻¹

M: concentração em mol. L⁻¹

A absorvância é uma grandeza adimensional, mas algumas pessoas escrevem “unidades de absorvância” depois do valor de absorvância. A concentração da amostra, *c*, é geralmente expressa em moles por litro (M). O caminho óptico, *b*, é geralmente expresso em centímetros. A grandeza ϵ (épsilon) é conhecida como **absortividade molar** e é expressa nas unidades M⁻¹ cm⁻¹ para tornar o produto ϵbc adimensional. (HARRIS, 2005).

Caso o caminho óptico não estiver em cm e a concentração em mol.L⁻¹, alteramos ‘ ϵ ’ para ‘a’.

Segundo Harris (2005, p.402) “a absortividade molar é característica de uma substância que indica qual a quantidade de luz que é absorvida num determinado comprimento de onda, se a concentração da espécie absorvente for de 1 mol.L⁻¹ e caminho óptico for 1 cm”.

4.1 LIMITAÇÕES DA LEI DE BEER

Existem alguns fatores que causam desvios na relação entre absorvância e concentração da espécie absorvente. Assim, a lei de Beer-Lambert é uma lei-limite:

- Apenas se aplica a luz monocromática e numa análise real há uma pequena porcentagem de incerteza, pois a luz incidente é policromática.
- A espécie absorvente não pode estar participando de ionizações, dissociações e associações (limitação química).
- Em altas concentrações, as moléculas do analito têm alterada a maneira como cada uma absorve a radiação monocromática (altera suas propriedades incluindo absorvidade molar).
- A relação entre absorvância e transmitância é mostrada no esquema a seguir, em que a transmitância de uma solução é medida em porcentagem e a absorvância é uma grandeza adimensional:

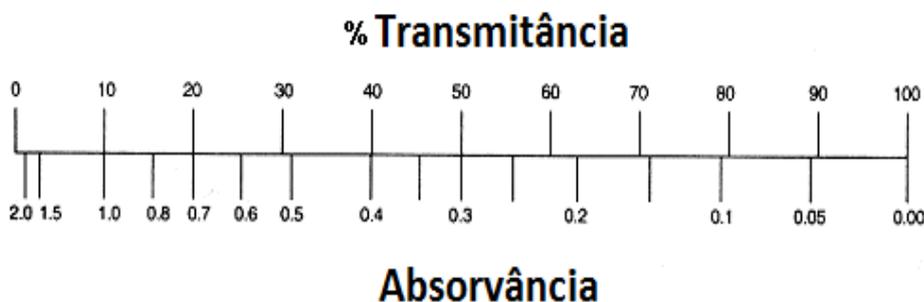


Figura 12 - Relação entre absorvância e transmitância.
Fonte: Elaborado pelo autor.

Portanto, se não houver absorvância em um determinado comprimento de onda, a transmitância percentual é 100%. No caso em que toda a luz é absorvida, a transmitância percentual é zero e a absorvância é infinita. A relação acima mostra que absorvâncias maiores do que 1,0 implicam em menos de 10% de intensidade luminosa chegando ao detector, o que poderia gerar resultados com maiores erros percentuais. Assim, é preferível trabalhar dentro de certos limites de absorvância, de modo a garantir que os resultados obtidos estejam dentro de uma margem aceitável de erro.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

- ❑ Substância química de referência (SQR) sibutramina da GENAX;
- ❑ Metanol da Dinâmica, Brasil, P.A;
- ❑ Água deionizada;
- ❑ Cápsulas de sibutramina manipuladas em 03 farmácias na dosagem de 15mg;
- ❑ Espectrofotômetro de absorção UV/Vis da Femton, Brasil, série 800 XI, acoplado a um computador;
- ❑ Cubetas porta amostra de quartzo;
- ❑ Balança analítica da Marte modelo AY 220.

5.2 METODOLOGIA

5.2.1 Ensaio de Solubilidade

Primeiramente foi realizado um ensaio para determinação da solubilidade da sibutramina em solução aquosa e metanol como solvente orgânico.

5.2.2 Preparação da Solução Estoque de Sibutramina

Para a preparação da solução estoque pesou-se 0,0020g da SQR a seguir transferiu-se para um balão volumétrico de 50,0 mL, solubilizando-se em 10,0 mL de metanol e completando o volume total da solução com água deionizada, obtendo-se uma solução na concentração de 40,0 μ g/mL. A solução foi estocada a 10 °C.

5.2.3 Preparação da solução de sibutramina para seleção do máximo de absorvância

Para realização da varredura na região do ultravioleta (200 – 390 nm) foi preparada uma solução de sibutramina, transferindo-se 20,0 mL da solução estoque na concentração de 40 μ g/mL para um balão volumétrico de 50,0 mL, o volume total foi completado com água deionizada, obtendo-se uma solução na concentração de 16,0 μ g / mL.

5.2.4 Preparação da solução com uma mistura de excipientes

Excipientes são componentes simples capazes de facilitar a administração e proteger o fármaco, são usados na diluição do ingrediente ativo, devem ser química e farmacologicamente inertes (GUIA, 2005). Um “pool” dos principais excipientes que poderiam ser utilizados na manipulação da sibutramina foi fornecido pela Farmácia Escola da Universidade Sagrado Coração. Preparou-se uma solução saturada destes excipientes em 2% de metanol e água deionizada para realização da varredura no espectrofotômetro na região do ultravioleta (200-390 nm).

5.2.5 Construção da curva analítica da sibutramina

Foram utilizadas para a construção da curva analítica as leituras de absorvância determinadas no intervalo de 40,0 a 2,0 μ g / mL de sibutramina faixa de concentração onde a Lei de Beer-Lambert é obedecida incluindo o valor de 15 μ g / mL.

5.2.6 Preparação das soluções das amostras

Determinou-se o peso médio das 10 cápsulas manipuladas de cada farmácia. As cápsulas dos medicamentos foram então desprezadas e utilizou-se somente o princípio ativo para cada solução. A sibutramina de cada drágea foi pesada e transferida para um balão volumétrico de 500mL e solubilizada em 10ml de metanol, em seguida o volume total foi completado com água deionizada. As análises foram realizadas em triplicatas para a Farmácia A, Farmácia B e Farmácia C.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Alguns fármacos estão sujeitos a problemas relacionados com a sua biodisponibilidade, que relaciona à quantidade e a velocidade de absorção do princípio ativo, responsável pelo efeito terapêutico do medicamento devido a influencia da sua solubilidade. Um dos procedimentos utilizados para melhorar a solubilidade de fármacos pouco solúveis é a granulação com materiais lipídicos. A solubilidade da sibutramina em solução aquosa levemente ácida é de 2,9 mg/ml, portanto um ensaio para limitar a quantidade de metanol foi necessário. A concentração mínima do solvente orgânico otimizado para garantir a dissolução total do fármaco foi de 2% de metanol em água.

O desenvolvimento do método teve início com a realização de uma varredura espectrofotométrica na região do UV, em uma faixa de 200 a 390 nm com a solução padrão de sibutramina na concentração de 16 µg/mL, objetivando-se a identificação do comprimento de onda onde o fármaco apresentasse valores de absorvância máximo. A Figura 13 mostra o resultado obtido.

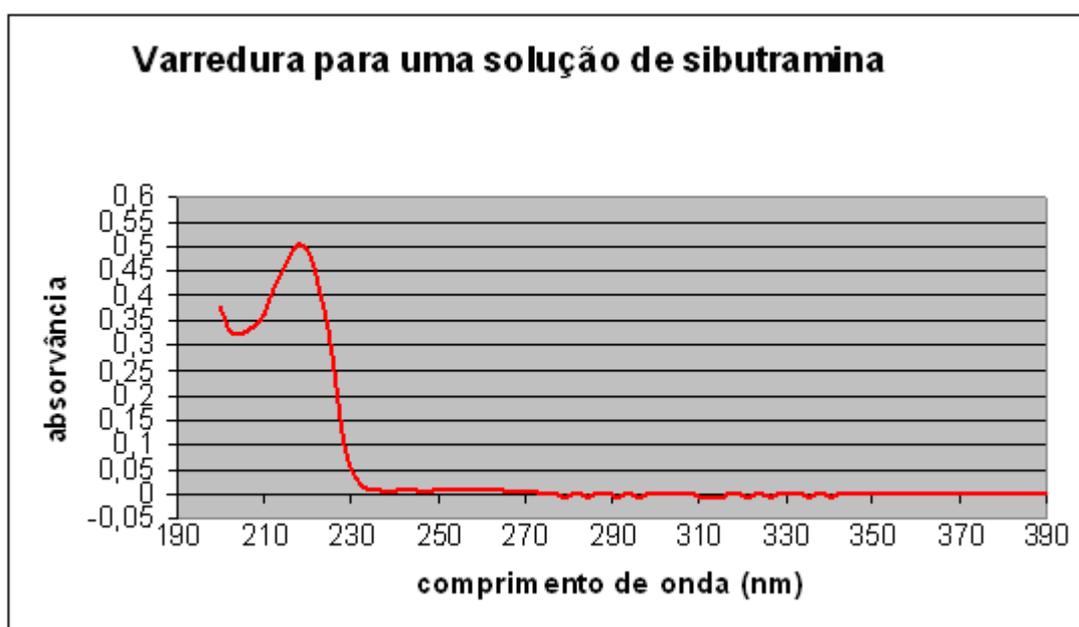


Figura 13 - Espectro de absorção para sibutramina.

O espectro de absorção, obtido a partir da varredura espectrofotométrica realizada demonstrou que a sibutramina apresentou um pico máximo de absorvância em 220 nm, valor próximo ao encontrado no método validado por Diefenbach, 2008, de 223 nm.

Para identificar possíveis interferências contidas nestas formulações, em relação à metodologia desenvolvida, foi realizada uma segunda varredura, com a solução preparada do “*pool*” dos excipientes. A figura 14 mostra o resultado final.

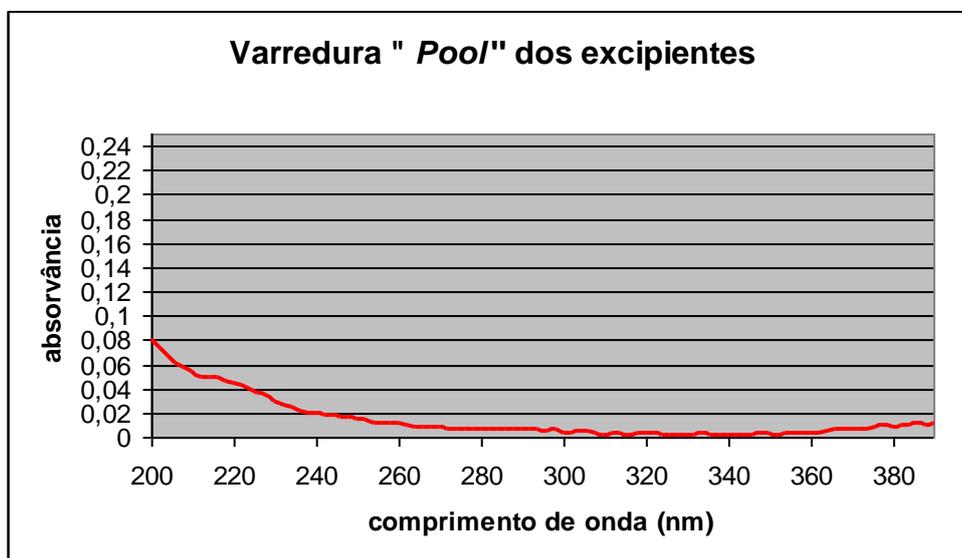


Figura 14 - Espectro de absorção para "pool" excipiente.

Como pode ser observado no espectro mostrado, no valor de 220 nm não foi detectado uma absorvância significativa dos excipientes, o que poderia comprometer a metodologia proposta.

Uma vez identificado o melhor comprimento de onda para as análises, a linearidade do método foi avaliada a partir da análise da curva analítica obtida em 06 níveis de concentração de 40,0; 32,0; 16,0; 8,0; 4,0; e 2,0 $\mu\text{g/mL}$, apresentada na figura 15.

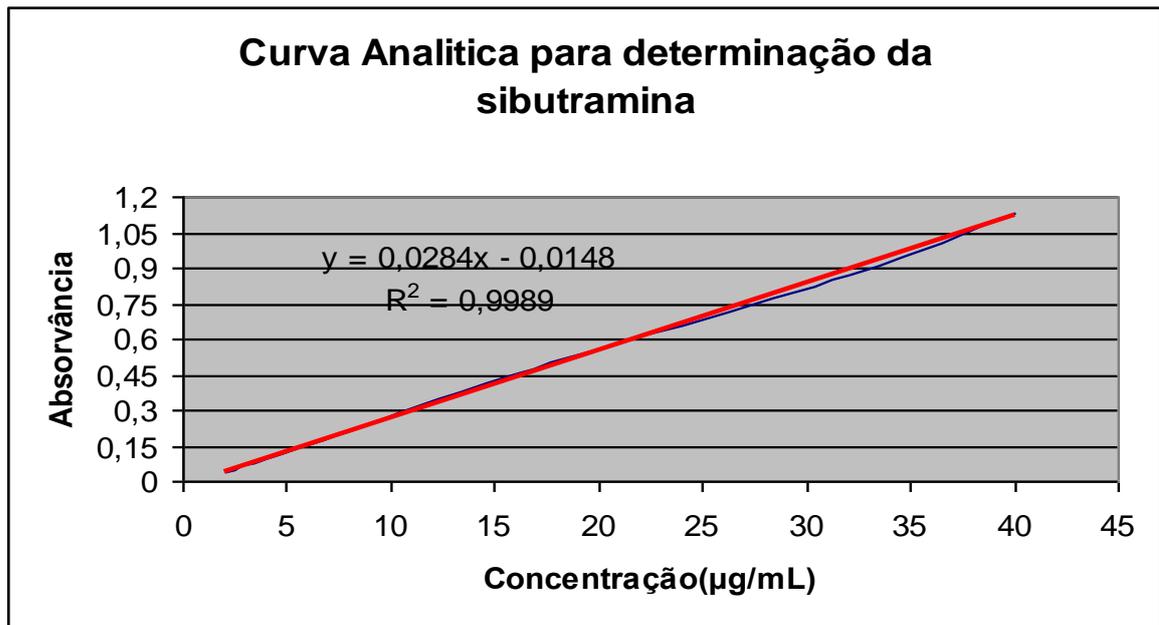


Figura 15 - Curva analítica da sibutramina.

O método proposto apresentou uma excelente linearidade na faixa de concentração trabalhada. A curva analítica obtida, pelo método dos mínimos quadrados, apresentou um coeficiente de correlação, $R^2 = 0,9989$, o que está em concordância com o critério mínimo aceitável pela ANVISA, RE 899/2003 que é $R^2 = 0,99$.

Para a determinação das concentrações de sibutramina foram avaliados 03 estabelecimentos renomados da cidade de Bauru, SP, identificadas neste trabalho como A, B e C. A Tabela 1 mostra os resultados obtidos para a concentração de sibutramina em cada cápsula, o valor médio para as três amostras avaliadas e a avaliação da precisão dos resultados com o cálculo dos desvios.

Tabela 1 - Concentrações de sibutramina.

Farmácia	A Concentração (µg/mL)	B Concentração (µg/mL)	C Concentração (µg/mL)
Amostra 1	17,6	21,2	15,9
Amostra 2	18,8	20,8	18,2
Amostra 3	16,7	20,3	19,1
Media dos resultados	17,7	20,7	17,7
Desvio Padrão (µg/mL)	1,1	0,5	1,6
Desvio Padrão Relativo ou (CV)*	6,2 %	2,4 %	9,0%

* CV coeficiente de variação $DP/ X_M \times 100$

A precisão com relação a repetitividade, é o grau de concordância entre resultados de análises individuais quando o procedimento é aplicado repetidamente à múltiplas análises de uma mesma amostra homogênea, em idênticas condições de trabalho, e pode ser avaliada pela grandeza do desvio padrão relativo ou coeficiente de variação obtido. Os três resultados ficaram abaixo do valor máximo aceitável pela ANVISA, de 15%.

Para avaliação da exatidão, concordância dos valores experimentais com o valor verdadeiro, o teor informado no medicamento de 15 mg por cápsula não poderia ser considerado como valor verdadeiro, pois não se trata de uma material certificado e esta sendo avaliado, porem para efeitos de comparação entre as farmácias A, B e C este cálculo foi efetuado. A exatidão foi calculada pela fórmula do guia de validação do GUIA, 2005, demonstrados na tabela 2 juntamente com a média das massas encontradas para as 10 cápsulas manipuladas de cada farmácia na concentração de 15,0 mg cada drágea.

Tabela 2 - Exatidão dos resultados obtidos para os três estabelecimentos avaliados.

Farmácia	A	B	C
Média das massas de 10 cápsulas	0,2417 g	0,1328 g	0,2188 g
Media do teor de sibutramina quantificado	17,7 µg/mL	20,7 µg/mL	17,7 µg/mL
*Exatidão (%)	18	38	18

$$* \text{Exatidão (\%)} = \frac{X_{\text{exp}} - X_v}{X_v} \times 100$$

Os resultados mostrados na tabela 2 mostram um grande desvio no valor encontrado para farmácia B tanto para a massa média das cápsulas, quanto para o teor de sibutramina quantificado. Não podemos concluir somente com estas análises que a manipulação neste estabelecimento foi inadequada, pois maiores informações e novos testes seriam necessários. É importante anotar que para a farmácia B uma quantidade maior de excipiente ficou insolúvel na solução o que pode estar relacionado com este desvio no resultado encontrado.

7 CONCLUSÃO

Das três Farmácias avaliadas todas foram aprovadas quanto ao controle de qualidade utilizando o método espectrofotômetro para determinação de sibutramina em cápsulas manipuladas, atendendo as especificações farmacopêicas. Porém o estabelecimento B apresentou concentração de substância ativa muito superior ao informado na embalagem, o que indica um possível um risco para a saúde ao adquirir esse medicamento ou qualquer outro em estabelecimentos de manipulação não qualificados.

Atualmente as farmácias de manipulações representam um espaço de grande atuação do profissional farmacêutico, resgata a prática de preparar, conservar, manipular e dispensar. Portanto ao farmacêutico cabe a responsabilidade em garantir tecnicamente, tanto ao cliente como ao profissional da saúde, a preparação dos produtos farmacêuticos com individualidade, priorizando que sejam manipulados com total qualidade e segurança. A co-responsabilidade e a ética do farmacêutico na confecção das fórmulas são de fundamentais importâncias.

O método utilizado por espectroscopia no ultravioleta para a quantificação da sibutramina em forma farmacêutica, atendeu a todas a necessidades, mostrou-se sensível (2,0 µg/mL, linear ($R > 0,99$), robusto e com valores de CV menores do que 15%. Portanto este método por ser rápido e de baixo custo, pode ser utilizado como uma alternativa viável para a análise de sibutramina, tanto na matéria-prima como no produto já manipulado.

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Anvisa aumenta controle sobre prescrição de sibutramina**. 2010. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home!/ut/p/c5/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hnd0cPE3MfAwMDMydnA093Uz8z00B_AwN_Q_1wkA48Kowg8gY4gKOBvp9Hfm6qfqRIDkuUyzMTfUjc1LTE5Mr9Quys9Oc0xUVAe0vEsM!/dl3/d3/L0IJSklna2shL0ICakFBTXIBQkVSQ0IBISEvWUZOQzFOS18yN3chLzdfQ0dBSDQ3TDAwMDZCQzBJRzVONjVRTzA4NzU!/?WCM_PORTLET=PC_7_CGAH47L0006BC0IG5N65QO0875_WCM&WCM_GLOBAL_CONTEXT=/wps/wcm/connect/anvisa/anvisa/sala+de+imprensa/noticias/anvisa+aumenta+controle+sobre+prescricao+da+sibutramina> . Acesso em: 11 Abril. 2011.
- BRAY, G. A.; RAYAN, D. H.; GORDON, D.; HEIDINGSFELDER, S.; CRERISE, F.; WILSON, K.A. A double-blind randomized placebo-controlled trial of sibutramine. **Obesity Research**, v.4, 263-270, 1996.
- BUCKETT, W. R.; THOMAS, P. C.; LUSCOMBE, G. P. The pharmacology of sibutramine hydrochloride, a new antidepressant which induces rapid noradrenergic down-regulation. **Prog. Neuropsychopharmacol Biol. Psychiatry**, v.12, p. 575-584, 1988.
- CHAPELOT, D.; MARMONIER C, THOMAS F, HANOTIN, C. Modalities of the food intake-reducing effect of sibutramine in humans. **Physiology Behavior**, v 68, p.299-308, 2000.
- CHEN, JUN; LU; WEI; ZHANG, QIZHI; JIANG, XINGUO. “Determination of the active metabolite of sibutramine by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry” . **Journal of Chromatography B**. v. 785, p. 197-203, 2002.
- DIEFENBACH. I. C. F. et al. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para o doseamento de sibutramina em cápsulas. **Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v. 27, n. 4, p.612-617, 2008. Disponível em: <www.latamjpharm.org/.../LAJOP_27_4_2_4_W8LM0M59B5.pdf> . Acesso em: 17 Mar de 2011.
- ESPECTRO, eletromagnético. **Sobiologia.com.br**, c 2008. Disponível em: <http://www.sobiologia.com.br/conteudos/oitava_serie/Ondas4.php> Acesso em: 7 abril. 2011.
- EWING, G. W. **Métodos Instrumentais de Análise Química**. 2. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1972.

GUIA, para qualidade em química analítica. **Uma Assistência à Habilitação**. 2005 Disponível em: < <http://www.anvisa.gov.br/divulga/public/series/laboratorios.pdf>>. Acesso em: 1 Junho. 2011.

HALFORD, J. C. G.; HEAL, D. J.; BLUNDELL, J. E. Effects in the rat of sibutramine on food intake and the behavioural satiety sequence. **Br. J. Pharmacol.**, v. 114, 1994.

HANSEN, D. L.; TOUBRO, S.; STOCK, M. J.; MACDONALD, I. A.; ASTRUP, A. The effect of sibutramine on energy expenditure and appetite during chronic treatment without dietary restriction, **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 23, p. 1016-1024, 1999.

RICHTER WO. [How safe are the new obesity drugs? Indications and contra indications of orlistat and sibutramine]. **MMW Fortschr Med.**, v. 141, p. 49-50, 1999.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

SKOOG, D.A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 8. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2008.

STOCK, M. J. Sibutramine: a review of the pharmacology of a novel anti-obesity agent. **Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord.**, v. 21, 1997.

STRICKER-KRONGRAD, A.; SOUQUET, A. M.; JACKSON, H. C.; BURLET, C. Effects of various monoamine receptor antagonists on the decrease in food intake induced by sibutramine in the rat. **Br. J. Pharmacol.**, v. 117, 1996.

SILVEIRA, J. **Europa suspende venda de remédio para emagrecer**. 2010. Disponível em: < <http://www1.folha.uol.com.br/foha/equilibrio/noticias/ult263u683720.shtml> >. Acesso em: 20 mar. 2011.