Revista Multidisciplinar do Nordeste Mineiro, v.05,2024

ISSN 2178-6925

DETERMINAÇÃO DE LANSOPRAZOL EM CÁPSULAS UTILIZANDO METODOLOGIA BASEADA EM IMAGENS DIGITAIS.

DETERMINATION OF LANSOPRAZOLE IN CAPSULES USING METHODOLOGY BASED ON DIGITAL IMAGES.

Arlesson Freire de Lima
Graduação em Farmácia-UFAM-ICET
Mestre em Ciência e Tecnologia para Recursos Amazônicos PPGCTRA
Email: arlessonfreire143@gmail.com

Eldon Carlos dos Santos Colares
Farmacêutico- Instituto Esperança de Ensino Superior
Responsável Técnico Pharbox- Manaus
Grupo de Pesquisa em Eletrocatálise e Química Bioinorgânica-UFRJ
Email: eldon.colares@hotmail.com

Mateus Feitosa Santos
Graduando em Farmácia- Universidade Federal do Amazonas
Grupo de Pesquisa em Produtos Naturais
Laboratório de fitoquímica e Semissíntese FITOPHAR-UFAM-FCF
Grupo de Pesquisa em Eletrocatálise e Química Bioinorgânica-UFRJ.
Email: mateusfeitosa035@gmail.com

Valdomiro Lacerda Martins
Químico Universidade Federal da Paraíba
Mestrado em Química Paraíba
Doutorado em Química-Universidade Federal de Pernambuco
Email: valdomiro@gmail.com

Resumo:

Neste trabalho, propõe-se a determinação do teor de lansoprazol, agente inibidor seletivo da H +/K+-ATPase gástrica, utilizando titulação baseada em imagem digital (Digital Image-Based Titration). O sistema DIB utiliza uma webcam para aquisição das imagens digitais com base no sistema de cor RGB (Red-Green-Blue). Durante o procedimento de titulação o método foi aplicado na titulação ácido-base do fármaco lansoprazol com o ácido clorídrico. A titulação foi realizada por DIB e por potenciometria. Na metodologia DIB para cada volume do titulante adicionado uma imagem era capturada e manipulada para obtenção dos valores da norma ($N=\sqrt{\bar{R}2+\bar{G}2+\bar{B}2}$). O volume gasto de titulante para atingir o ponto de equivalência, foi obtido a partir da segunda derivada da curva de titulação. Os resultados obtidos das amostras não apresentaram nenhuma diferença estatística significativa no nível de confiança de 95 % que foi verificada após aplicar o teste t emparelhado (tcalculado = 0,439 e tcrítico = 2,353). Os desvios padrão relativos utilizando a metodologia DIB, com exceção da amostra C, ficaram abaixo de 1,0 %.

Palavras-chave: Titulação baseada em imagens digitais, potenciometria, lansoprazol, cápsulas.

Abstract:

In this work, it is proposed to determine the content of lansoprazole, a selective inhibitor of gastric H+/K+-ATPase, using titration based on digital image (Digital Image-Based Titration). The DIB system uses a webcam to acquire digital images based on the RGB (Red-Green-Blue) color system. During the titration procedure, the method was applied to the acid-base titration of the drug lansoprazole with

ISSN 2178-6925

hydrochloric acid. Titration was performed by DIB and potentiometry. In the DIB methodology, for each volume of titrant added, an image was captured and manipulated to obtain the norm values ($N=\sqrt{\bar{R}2+\bar{G}2+\bar{B}2}$). The volume of titrant used to reach the equivalence point was obtained from the second derivative of the titration curve. The results obtained from the samples did not show any significant statistical difference at the 95% confidence level, which was verified after applying the paired t-test (tcalculated = 0.439 and tcritical = 2.353). The relative standard deviations using the DIB methodology, with the exception of sample C, were below 1.0%.

Keywords: Titration based on digital images, potentiometry, lansoprazole, capsules.

1. INTRODUÇÃO

Desde a sua introdução no mercado há quase duas décadas, os inibidores da bomba de prótons (IBP) revolucionaram o tratamento da doença de refluxo gastroesofágico (FASS et al., 2005). Os inibidores da bomba de prótons (IBP) são uma das classes de medicamentos mais prescritas no mundo, pois estes combinam um alto nível de eficácia juntamente com uma baixa toxicidade (FORGACS; LOGANAYAGAM, 2008). Estes agentes inibem seletivamente e irreversivelmente a bomba de prótons (H^+/K^+-ATPase) através de ligação covalente por pontes dissulfetos (SACHS et al., 1995). Os medicamentos desta classe incluem o omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol e esomeprazol (STEDMAN; BARCLAY, 2004).

Devido à alta incidência de distúrbios gastroduodenais e os fármacos inibidores da bomba de prótons serem os mais prescritos e usados muitas vezes empiricamente (prescritos ou automedicação) relacionado ao seu baixo custo de aquisição é necessário uma avaliação físico-química as quais são fundamentais para a monitoração e identificação de possíveis alterações para a verificação dos dados da rotulagem estão de acordo com as legislações vigentes (WYSZOMIRSKA et al., 2009; SOHAILY; DUGGAN, 2008).

Para a determinação de lansoprazol diferentes métodos analíticos são reportados na literatura tais como: métodos cromatográfico, potenciométrico e espectrofotométrico usualmente, estas técnicas utilizam equipamentos de custo relativamente alto, suas análises são demoradas e consomem quantidades elevadas de reagentes (SCHMIDT JR; MELCHERT, 2011; BOSCH et al., 2007; MOUSTAFA, 2000).

Os métodos oficiais para doseamento sugerido pela Farmacopeia Europeia (2012) são titulações ácido-base, em que um titulante reage com um analito, com determinação do ponto final potenciométricamente e a cromatografia em fase líquida de alta eficiência. A titulação envolve a observação visual da mudança de coloração da solução usando um indicador para detecção do ponto final (CARDWELL et al., 1991).

A titulação potenciométrica, segundo Wang (2006), é uma técnica eletroanalítica que fornece informações sobre a composição de uma amostra. Nela a informação analítica é dada pelo potencial que se desenvolve entre dois eletrodos. Um destes eletrodos é o de referência e o outro é chamado de indicador, sendo ambos imersos em solução do analito. As titulações potenciométricas apresentam algumas desvantagens tais como: (i) requerem equipamento especial; (ii) são de execução mais demorada do que as titulações convencionais baseadas no uso de indicadores; (iii) são invasivas, pois necessitam que o sensor esteja em contato com a amostra a ser analisada, e assim a relação entre o volume de amostra e as dimensões dos sensores é um fator determinante para a qualidade dos resultados; e (iv) fragilidade dos eletrodos (OHLWEILER, 1981; COSTA et al., 2015).

ISSN 2178-6925

Uma alternativa que pode minimizar estes inconvenientes é a utilização de metodologia baseada em imagens digitais. Métodos baseados em imagens digitais vêm sendo utilizados como uma alternativa satisfatória para determinações quantitativas em química analítica (GAIÃO et al., 2006). Esta metodologia emprega o sistema de cor RGB (do inglês: *Red-Green-Blue*) onde os valores individuais das cores primárias variam de 0 a 255 (8 bits) (LIMA et al., 2012). Essas imagens podem ser capturadas a partir de *scanner*, *webcam* e câmeras digitais com sensores baseados em CCDs (do inglês: *Charge-Coupled Devices*) ou em CMOS (do inglês: *Complementary Metal-Oxide Semiconductor*) (BYRNE et al., 2000).
Neste trabalho, foi proposta uma metodologia baseada em imagens digitais para a determinação de lansoprazol por intermédio de titulação ácido-base.Utilizou- se uma *webcam* para a obtenção das imagens digitais como descrito por Gaião et al. (2006).

2. METODOLOGIA

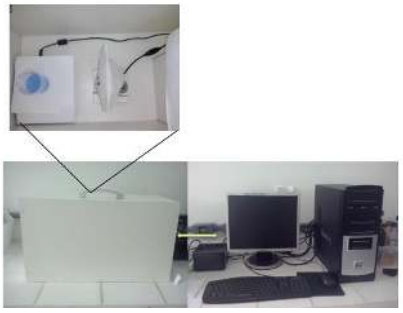
2.1 Reagentes, soluções e amostras

Para determinação de lansoprazol foram preparadas as seguintes soluções: tetraborato de sódio ($Na_2B_4O_7.10H_2O$) 0,050 mol/L; ácido clorídrico (HCl) 0,1 mol/L; vermelho de metila 0,2% e azul de bromofenol 0,4 %.
Primeiramente preparou-se 500 mL de HCl 0,1 mol/L. E posteriormente preparou-se 250 mL da solução de tetraborato de sódio 0,050 mol/L e a solução indicadora de vermelho de metila 0,2%. O tetraborato de sódio 0,050 mol/L foi utilizado apenas para a padronização da solução estoque de HCl 0,1 mol/L através da titulação utilizando o vermelho de metila como indicador utilizando metodologia convencional. Este procedimento foi realizado em triplicata e todas as soluções foram preparadas a partir de reagentes P.A com água recém-destilada.

2.2 Equipamentos

O diagrama esquemático do sistema montado para a aquisição das imagens digitais está representado na Figura 1.
Uma WebCam modelo Multilaser marca iMicro modelo IMC 3299 foi posicionada em frente ao béquer com volume interno de 100 mL contendo 50 mL da amostra com mistura de água e etanol (1:4) e de um agitador magnético modelo Color Squid que atuava impulsionando uma barra de agitação no interior do béquer foram utilizados para aquisição das imagens digitais.
As soluções coloridas foram iluminadas somente pela luz produzida da WebCam.

Figura 1: Sistema desenvolvido



Fonte: Os autores.,(2024)

ISSN 2178-6925

A fim de evitar interferências da luz ambiente, a WebCam e o béquer contendo as amostras foram colocados em uma caixa de madeira com aproximadamente 53 x 28 x 30 cm. Para proporcionar uma iluminação uniforme e para reduzir o brilho e reflexão especular das paredes internas da caixa estas paredes foram cobertas com uma camada de papel branco.

A WebCam foi conectada à porta USB de um microcomputador com processador Intel Duo Core (2,4 GHz, 2 MB L2 cache e 2 Gb de memória) e configurado para capturar imagens digitais com resolução espacial de 320 pixels × 240 pixels. As imagens foram capturadas e armazenadas como arquivos "jpg" usando o software fornecido pelo fabricante da WebCam. Para as medidas por potenciometria o sistema era composto de um pHmetro marca Hanna Instruments modelo HI 2221; um um agitador magnético e um recipiente para a amostra conforme visto na figura 2.

Figura 2: Sistema para potenciometria



Fonte: Os autores.,(2024)

2.3 Abertura das cápsulas

Foram analisadas cinco amostras de lansoprazol em cápsulas contendo 30 mg de fármaco. Estas amostras foram nomeadas de A, B, C, D e E. Antes de iniciar as titulações, as microcápsulas foram removidas de seu encapsulamento manualmente.

2.4 Doseamento

2.4.1 Método de referência

Pesou-se, aproximadamente, cerca de 0,300 g dos grânulos retirados das cápsulas e dissolveu-se em 50 mL da mistura de água e etanol (1:4). Adicionou-se três gotas do indicador azul de bromofenol 0,4%.

Titulou-se com ácido clorídrico 0,1 mol/L adicionando-se progressivamente 0,100 mL do titulante com auxílio de uma micropipeta de 200 µL automática até a mudança da coloração.

Uma leitura era feita a cada volume de titulante adicionado e os dados armazenados em uma planilha,segundo metodologia modificada da Farmacopeia Europeia (EUROPEAN PHARMACOPEIA, 2012). Determinou-se o ponto final potenciométricamente. A titulação foi realizada em triplicata para cada amostra apenas uma cápsula foi analisada por vez.

ISSN 2178-6925

2.4.2 Procedimento para titulação por imagens digitais

Pesou-se, aproximadamente, cerca de 0,300 g dos grânulos retirados das cápsulas e dissolveu-se em 50 mL da mistura de água e etanol (1:4). Adicionou-se três gotas do indicador azul de bromofenol 0,4%.

Titulou-se com ácido clorídrico 0,1 mol/L adicionando-se progressivamente 0,100 mL do titulante com auxílio de uma micropipeta de 200 µL automática até a mudança da coloração. Para as medidas por imagens digitais, uma imagem era capturada para cada volume de titulante adicionado e armazenadas no microcomputador (GAIÃO et al., 2006). Determinou-se o ponto final através da titulação DIB.

2.3 Programa computacional

As imagens digitais obtidas durante a titulação DIB do lansoprazol foram tratadas com a utilização do software ImageJ que é um programa escrito em Java de processamento de imagem de domínio público. Este software está disponível no site www.imagej.net para download gratuitamente para sistemas operacionais Windows, Mac OS e Linux.

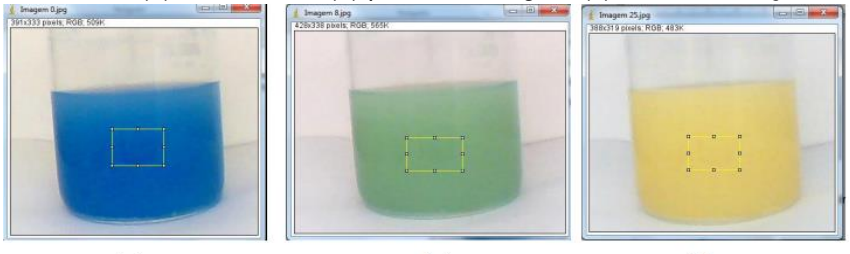
Este software pode exibir, editar, analisar, processar, salvar e imprimir imagens de 8, 16 e 32 bits. Através deste software pode-se ler vários formatos de imagem, incluindo TIFF, GIF, JPEG e BMP. Ele pode calcular estatísticas de valor de pixel de seleções pré-definidas pelo usuário. Pode medir distâncias e ângulos e criar histogramas de densidade e gráficos de perfis de linha. Ele suporta funções de processamento de imagem padrão, tais como: manipulação de contraste, nitidez, detecção de bordas e filtragem mediana.

2.4 Tratamento dos dados

O processamento das imagens digitais utilizando o ImageJ é realizado da seguinte forma: primeiramente abre-se o arquivo da imagem desejada e selecionar a região mais homogênea dessa imagem (Figura 3), as coordenadas da região selecionada são utilizadas para determinar as componentes RGB (Figura 4).

A figura 4a representa a cor da solução inicial, ou seja, quando nenhum volume da solução de HCl 0,1 mol L-1 era adicionado; e a figura 4b representa a cor da solução quando uma quantidade suficiente de HCl 0,1 mol L-1 era adicionado até atingir o ponto final de titulação do fármaco (Figura 4c).

Figura 3: Interface do software ImageJ mostrando a área selecionada para obtenção de valores RGB no (a) branco e no (b) ponto de viragem (c) final da titulação

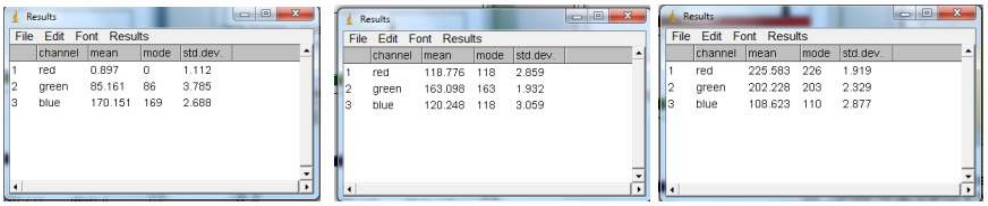


(a) (b) (c)

Fonte: Os autores., (2024)

ISSN 2178-6925

Figura 4: Valores médios de RGB de A até C



(a) (b) (c)

Fonte: Os autores., (2024)

2.5 Determinação do teor de lansoprazol por imagens digitais

Para obtenção do parâmetro analítico, volume de HCl no ponto final da titulação, construiu-se uma curva dos valores da norma versus o volume de HCl adicionado durante a titulação (N x VHCl). Construiu-se a curva da segunda derivada da curva N x VHCl e tomou-se o volume de HCl para o valor zero dessa derivada (d2N / dV2). Os gráficos das curvas são apresentados no tópico de resultados.

O teor de lansoprazol (C16H14F3N3O2S) nas amostras foi determinado considerando-se o volume gasto de HCl no ponto final da titulação e a estequiometria da reação. A determinação foi realizada em triplicata e a equação utilizada para calcular o teor de lansoprazol a partir do volume gasto de HCl no ponto final da titulação foi a seguinte: **m = MM g/mol X [HCl] mol/L x VHCl.**

2.6 Determinação do teor de lansoprazol por potenciometria

Para obtenção do parâmetro analítico, volume de HCl no ponto final da titulação, construiu-se uma curva dos valores de pH versus o volume de HCl adicionado durante a titulação (pH x VHCl). Construiu-se a curva da segunda derivada da curva pH x VHCl e tomou-se o volume de HCl para o valor zero dessa derivada (dpH2 / d2V).

O teor de lansoprazol (C16H14F3N3O2S) nas amostras foi determinado considerando-se o volume gasto de HCl no ponto final da titulação e a estequiometria da reação. A determinação foi realizada em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método por titulação ácido-base, desenvolvido para determinação do lansoprazol em formulação farmacêutica, foi adaptado da monografia da Farmacopeia Europeia (European Pharmacopeia, 2012). O método baseia-se na reação do lansoprazol com o ácido clorídrico, formando o ácido sulfênico e sulfenamida.

A tabela com os resultados obtidos a partir da titulação potenciométrica e os valores da norma das imagens digitais obtidas durante a titulação foram organizados de acordo com a Tabela 1.

ISSN 2178-6925

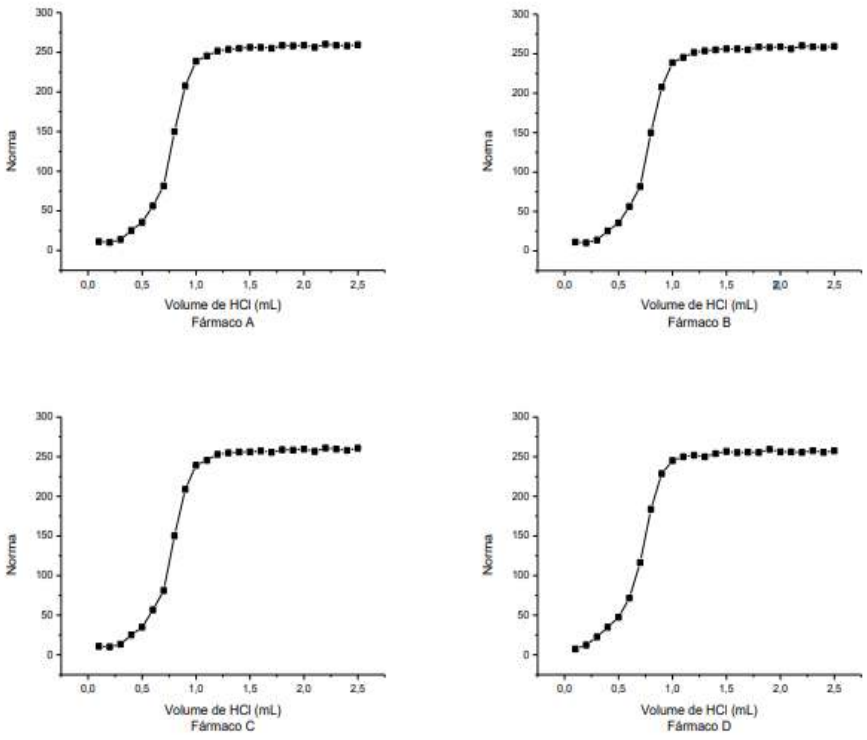
Tabela 1: Resultados obtidos dos valores RGB a partir das imagens digitais

Vol. HCl (mL)	R	G	B	Norma
0,1	0	94	158	9,21
0,3	1	102	147	22,69
0,5	25	120	134	51,12
0,7	100	152	121	126,78
0,9	201	203	131	234,40
1,1	215	205	134	247,08
1,3	213	208	131	247,18
1,5	218	210	129	252,74
1,7	217	206	122	251,02
1,9	224	201	117	255,69
2,1	224	201	117	255,69

Fonte: Os autores.,(2024)

A titulação consiste em acompanhar vários estágios e determinar o ponto final da titulação através dos valores fornecidos das componentes RGB. A determinação do ponto final foi realizada através da curva de titulação que em geral é uma curva sigmóide como apresentado na figura 5.

Figura 5: Determinação do ponto final



Fonte: Os autores.,(2024)

ISSN 2178-6925

O segmento central é onde se localiza o ponto final de titulação, sendo o ponto final da titulação obtido a partir do ponto de inflexão da curva. Para determinar com exatidão o ponto final é necessário realizar um tratamento matemático.

O teor do fármaco em cada cápsula das amostras A, B, C, D e E foram calculados a partir dos volumes gastos de ácido clorídrico durante as titulações, considerando a estequiometria da reação . A tabela 2 mostra os resultados obtidos para amostras A, B, C, D e E empregando os métodos DIB e potenciométrico, respectivamente.

Como pode ser visto na Tabela 3, os resultados obtidos nas análises das amostras de lansoprazol utilizando titulação baseada na metodologia DIB mostram-se próximos daqueles obtidos usando a titulação potenciométrica. Nas análises realizadas não foram vistas nenhuma diferença estatística significativa no intervalo de confiança de 95 % foi verificada após aplicar o teste t emparelhado (tcalculado = 0,439 e tcrítico = 2,353).

Tabela 2: Determinação do lansoprazol por DIB e Potenciometria

Amostra	Imagem Digital		Potenciometria	
	$\bar{X}_{DIB} \pm DP_{DIB}$	DPR_{DIB}	$\bar{X}_{Pot} \pm DP_{Pot}$	DPR_{Pot}
A	26,80 ± 0,17	0,65	31,63 ± 0,35	1,11
B	26,80 ± 0,17	0,65	23,20 ± 0,17	0,75
C	27,17 ± 0,74	2,71	30,80 ± 0,56	1,81
D	26,60 ± 0,00	0,00	23,23 ± 0,21	0,90
E	27,40 ± 0,56	2,03	34,70 ± 2,08	5,99

Fonte: Os autores.,(2024)

Os desvios padrão relativos utilizando a metodologia DIB, com exceção da amostra C, ficaram abaixo de 1,0 %. O mesmo ocorreu com aqueles cuja titulação foi acompanhada pela medida do pH.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Neste trabalho foi proposta uma nova metodologia para determinação do teor de lansoprazol em cápsulas. Ao comparar os resultados obtidos com a titulação realizada por DIB com aqueles obtidos por titulação potenciométrica e analisando os resultados do ponto de vista estatístico aplicando o teste t emparelhado, observa-se nenhuma diferença significativa para o intervalo de confiança de 95 %, entre os resultados obtidos pelas duas metodologias.

No estudo realizado observou-se que os desvios padrão relativos utilizando a metodologia DIB, com exceção da amostra C, ficaram abaixo de 1,0 %, apresentando o mesmo nível de precisão dos resultados obtidos por titulação potenciométrica.

Diante dos resultados apresentados, seja por titulação DIB, seja por titulação potenciométrica, conclui-se a titulação utilização imagens digitais apresentou-se com uma boa alternativa aos métodos existentes na literatura para determinação do teor de lansoprazol.

Para demonstrar ainda mais a viabilidade da metodologia DIB na determinação do teor de lansoprazol pretende-se: a) Aplicar a metodologia a outros fármacos da classe do lansoprazol, b) Testar outros parâmetros para análise de qualidade que possam usar a técnica desenvolvida

ISSN 2178-6925

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEAM (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas) pelo apoio financeiro por meio do seguinte edital: 003/2020 – PAINTER (processo nº 062.00877/2020).

6. REFERÊNCIAS

BOSCH, M. E; SÁNCHES, A. J. R; ROJAS, F. S; OJEDA, C.B. Analytical methodologies for the determination of omeprazole: an overview. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical**, Espanha, v. 44, n. 4, p. 831-844, aug. 2007.

BYRNE, L. BARKER, J.; PENNARUN-THOMAS, G.; DIAMOND, D. Digital imaging as a detector for generic analytical measurements. **Trends in analytical chemistry**, Irlanda, v.19, n.8, p. 517-522, aug. 2000.

CARDWELL, T. J.; CATTRALL, R. W.; CROSS, G. J.; O'CONNELL, G. R., PETTY, J. D.; SCOLLARY, G. R. Determination of titratable acidity of wines and total acidity of vinegars by discontinuous flow analysis using photometric end-point detection. **Analyst**, v. 116, n. 10, p. 1051-1054, 1991.

COSTA, A. B.; CRUZ, D. R. N.; ALÉSSIO, K. O.; GARCIA, A. D.; ROTHMUND, K.; CARVALHO, F. S. BARIN, J. S.; TEDESCO, L. P. Aplicação da Termografia por Infravermelho para Titulações Termométricas. **Orbital-The Electronic Journal of Chemistry**, vol. 7, n. 2, p. 196-201, 2015.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA. 7. ed. **Strasbourg: Council of Europe**, 2012.

FASS R, SHAPIRO M, DEKEL R, SEWELL J. Systematic review: proton-pump inhibitor failure in gastro-oesophageal reflux disease where next? **Aliment Pharmacol Ther.** 2005 Jul 15;22(2):79-94.

FORGACS, I.; LOGANAYAGAM, A. Overprescribing próton pump inhibitors. **British Medical Journal**, Londres, n.7634, jan. 2008.

GAIÃO, E. N.; MARTINS, V. L.; LYRA, W. S.; SILVA, E. C.; ARAÚJO, M. C. U. Digital image-based titrations. **Analytica Chimica Acta**, Paraíba, v. 570, p. 283 290, jun. 2006.

LIMA, M. B.; ANDRADE, S. I. E.; ALMEIDA, L. F. ARAÚJO, M. C. U. A digital image based micro-flow-batch analyzer. **Microchemical Journal**, v. 106, p. 238-243, jan. 2012.

MOUSTAFA, A. A.M. Spectrophotometric methods for the determination of lansoprazole and pantoprazole sodium sesquihydrate. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 22, n.1 p. 45-58, feb. 2000.

OHLWEILER, O. A. **Fundamentos da Análise Instrumental.** ed. LTC. Rio de Janeiro, 1981.

SACHS, G.; SHIN, J.M.; BRIVING, C.; WALLMARK, B.; HERSEY, S. The pharmacology of the gastric acid pump: the H+, K+ ATPase. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 35, n. 1, p. 277-305, 1995.

SCHMIDT JR, E; MELCHERT, W. R.; ROCHA, F. R. P. Sistema de análises em fluxo polivalente para a determinação espectrofotométrica de fármacos. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 7, p. 1205-1210, mar. 2011.

ISSN 2178-6925

SOHAILY, S.A., DUGGAN, A. Long term management of patients taking proton pump inhibitors. **Australian Prescriber, Newcastle**, n. 31, p. 5-7, 2008.

STEDMAN, C. A. M.; BARCLAY, M. L. Review article: comparison of the pharmacokinetics, acid suppression and efficacy of proton pump inhibitors. **Aliment Pharmacol Ther**, v. 14, n. 8, p. 963-978, 2000.