

Eclética Química

Print version ISSN 0100-4670 *On-line version* ISSN 1678-4618

Eclet. Quím. vol.26 São Paulo 2001

<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-46702001000100013>

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA SIMPLIFICADA PARA ANÁLISE DE HEXAMETILENOTETRAMINA (HMT) EM MEDICAMENTOS CONTENDO CORANTES EM SUA FORMULAÇÃO.

Aristeu Gomes TININIS*

Alberto Opperman SANTINI*

Enelton FAGNANI*

Cristo Bladimiros MELIOS*

Leonardo PEZZA*

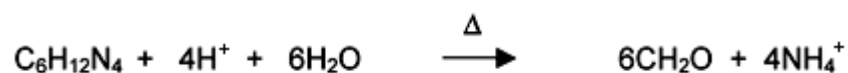
Helena Redigolo PEZZA*

RESUMO: No presente trabalho desenvolveu-se metodologia simplificada para análise de hexametenotetramina em medicamentos que apresentam corantes em sua formulação (azul de metileno, Ponceau Red, Bordeaux Red, acriflavina) seguida por titulação ácido-base usando indicador. O método foi aplicado com sucesso a amostras comerciais e os resultados obtidos foram comparados com aqueles encontrados por titulação potenciométrica, apresentando muito boa concordância. Recobrimentos situaram-se na faixa de 101,3 – 104,2%, com desvios padrão de 0,1 – 2,1.

PALAVRAS CHAVE: hexametenotetramina, corantes, medicamentos, titulação ácido-base.

INTRODUÇÃO

Hexametenotetramina^{27,6} (HMT, 1,3,5,7-tetraazotriciclo[3.3.1.1^{3,7}]-decano; hexamina; metenamina; aminofórmio; urotropina; formina; C₆H₁₂N₄) é usada na manufatura de compostos explosivos, em adesivos, compostos selantes, como fonte de formaldeído na cura de resinas fenólicas, vulcanização de borracha e como anti-séptico do trato urinário. Sua ação anti-séptica deve-se ao formaldeído liberado após hidrólise ácida da HMT, segundo a equação⁶:



Quase todas as bactérias são sensíveis a formaldeído livre em concentrações de aproximadamente 20 mg mL⁻¹. O formaldeído liberado é muito útil quando o organismo causador da infecção é *E. coli*, mas pode reprimir ofensores gram-negativos comuns e freqüentemente *Staph. aureus* e *Staph. epidermis*⁶.

A HMT é comercializada no Brasil através de várias marcas registradas, sendo que a maioria delas contém corantes como: azul de metileno (em maior quantidade), Ponceau Red, Bordeaux Red e acriflavina em sua composição¹⁴. Também nos Estados Unidos ela é muito utilizada em associação com outras drogas contendo azul de metileno em sua formulação (cerca de 14 marcas registradas)¹⁵. A presença de corantes nessas formulações dificulta imensamente a detecção de falsificações e/ou adulterações em produtos que contém HMT como princípio ativo, através da aplicação dos métodos comumente disponíveis para sua identificação e quantificação.

Devido à sua importância, numerosos métodos têm sido propostos para sua quantificação, podendo ser citados dentre eles: cromatografia gasosa^{8,16}, cromatografia gás-líquido²¹, HPLC¹⁰, complexometria⁴, espectrofotometria^{1,22,13,3,11,17}, gravimetria²⁰, polarografia²⁸, potenciometria^{9,2}, ressonância magnética nuclear^{12,24}, titulação ácido-base²⁵.

A Farmacopéia Americana²⁵, descreve a titulometria ácido-base por retorno com uso de indicadores para sua determinação. Entretanto, esse procedimento só pode ser aplicado em preparações que contém HMT como princípio ativo na ausência de corantes, principalmente azul de metileno que está presente em maior quantidade. A literatura relata apenas um trabalho¹⁷ em que a HMT é determinada simultaneamente com azul de metileno em medicamentos por espectrofotometria UV derivativa. Entretanto, métodos baseados em absorção UV apresentam baixa seletividade, tendo em vista que os compostos insaturados apresentam uma ou mais bandas de absorção nessa região do espectro.

No presente trabalho propomos uma metodologia simples, rápida e de baixo custo para a extração dos corantes usando um kit proposto anteriormente para spot-test²³. Em seguida, realizou-se a determinação quantitativa por titulometria ácido-base com uso de indicadores. Os resultados obtidos pelo método proposto foram comparados com aqueles obtidos por titulação potenciométrica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Materiais:

Reagentes de grau analítico ou farmacêutico foram utilizados em todos os procedimentos.

- Hexametilenotetramina (HMT, Merck, p.a.): seca sob pentóxido de fósforo por quatro horas como descrito no método padrão da USP²⁵.
- Solução de HMT 10,00 gL⁻¹, preparada por dissolver 500,0 mg de HMT em 50,00 mL de água recém deionizada.

- Hidróxido de sódio (Merck, p.a.) $0,7426 \text{ mol L}^{-1}$, preparado de maneira usual²⁶ e padronizado com ftalato ácido de potássio.
- Solução de ácido sulfúrico $0,4953 \text{ mol L}^{-1}$, preparado da maneira usual a partir de H_2SO_4 concentrado (Carlo Erba, 96%, p.a.) e padronizado com solução anteriormente padronizada de NaOH, após conveniente diluição.
- Ácido cromotrópico ($\text{C}_{10}\text{H}_6\text{O}_8\text{S}_2\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Merck, p.a.): uma solução de 5 % de ácido cromotrópico em ácido sulfúrico concentrado foi recentemente preparada para averiguar as eliminações de formaldeído após hidrólise ácida da HMT.
- Fenolftaleína: solução indicadora, preparada como descrito na literatura²⁶.
- Formulações farmacêuticas contendo em sua composição HMT e azul de metileno, entre outros corantes, foram adquiridas em farmácias.
- Kit composto de : seringa descartável de 20 mL (sem agulha) e algodão comum em bolas, adquiridos em farmácias.
- Água destilada e desionizada foi utilizada no preparo de todas as soluções.
- Vidraria de "grau A " foi usada em todos os procedimentos.

Equipamentos:

- Balança analítica Mettler Toledo AG204.
- Titulador automático "Metrohm" mod. 716, com eletrodo combinado de vidro "Metrohm" mod. 6.0234.100.
- Chapa aquecedora ou banho-maria.
- Banho de ultra-som Thornton T14.

Metodologia:

Método proposto:

Dez comprimidos de amostras comerciais de medicamentos contendo HMT como princípio ativo e corantes em sua formulação foram pesados individualmente e finamente pulverizados em almofariz de ágata.

Uma quantidade adequada de amostra contendo de 100 a 120 mg de HMT foi convenientemente pesada e dissolvida em água, sonificada por aproximadamente 15 minutos em banho de ultra-som e transferida quantitativamente para balão volumétrico de 50,00 mL sendo o volume completado com água desionizada.

A solução de amostra assim preparada foi passada por uma coluna de algodão preparada como se segue: três bolas de algodão seco (@ 3,6 g) são colocadas dentro de uma seringa de 20 mL sem agulha (9,6 cm de comprimento e 1,8 cm de diâmetro interno) com o auxílio de seu próprio pistão de tal modo que o volume ocupado pelo algodão seja de aproximadamente 17 mL (graduação da própria seringa). O eluato incolor é recolhido em um béquer.

Alíquota de 10,00 mL do eluato foi transferida para erlenmeyer de 250 mL , adicionou-se então 25,00 mL de solução padronizada de ácido sulfúrico 0,4953 mol L⁻¹. Em seguida o erlenmeyer foi aquecido em chapa aquecedora ou banho-maria (90° C), até teste negativo para formaldeído (feito com solução de ácido cromotrópico 5% em ácido sulfúrico concentrado) conforme descrito na Farmacopéia²⁵, tomando-se o cuidado de adicionar água durante o procedimento para que não seque. Após a eliminação total de formaldeído e a solução atingir a temperatura ambiente, o excesso de ácido sulfúrico foi titulado com NaOH 0,7426 mol L⁻¹ usando-se fenolftaleína como indicador.

Fez-se um branco nas mesmas condições de preparo das soluções de amostras seguido por titulação com NaOH conforme já descrito.

Método utilizado para comparação:

O método utilizado para comparação emprega a titulação potenciométrica. Seguiu-se essencialmente o procedimento descrito na Farmacopéia²⁵, adequando-se convenientemente as concentrações de HMT para o presente caso e realizando-se uma titulação potenciométrica com eletrodo combinado de vidro em titulador automático "Metrohm" mod. 716 ao invés de titulometria ácido-base com o auxílio de indicador, devido à presença de corantes na amostra.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Resultados:

As formulações farmacêuticas disponíveis comercialmente no Brasil, que contém corantes em sua composição foram analisadas. As composições dessas formas de dosagem representativas são dadas na **Tabela 01**.

Tabela 01 – Dados para alguns medicamentos contendo HMT disponíveis comercialmente.

Nome comercial	Fabricante	Forma de apresentação	Composição Nominal
Cystex®	SEM	comprimidos ^a	HMT ^b (250mg); MB ^c (20mg); AF ^d -HCl (15mg); belladonna em pó (15mg); Ponceau Red (10mg); Bordeaux Red (10mg) + excipiente ^e
Sepurin®	Gross	comprimidos ^a	HMT ^b (120mg); MB ^c (20mg); + excipiente ^e
Urosalin®	Herald's	comprimidos ^a	HMT ^b (120mg); MB ^c (20mg); + excipiente ^e

a – As massas dos comprimidos variam entre 0,46 e 0,67g;

b – HMT = Hexametilenoctetramina (Urotropina);

c – MB = Azul de metileno;

d – AF = Acriflavina;

e – esses contém vários ou todas as seguintes substâncias/materiais: talco, amido, gelatina, goma arábica, sulfato de sódio, etanol, estearato de magnésio, cera de carnaúba, cera branca, polietilenoglicol, essência de anis, polivinil pirrolidina, galactose, ácido cítrico, bicarbonato de sódio, benzoato de sódio, dióxido de titânio, sílica, carbonato de cálcio, sacarina, ciclamato de sódio, sacarose, manitol, metil-p-hidroxibenzoato e propil-p-hidroxibenzoato.

® = marca registrada.

Foi encontrado que a coluna de algodão seco, a qual foi preparada conforme descrito na metodologia proposta, remove a mistura de corantes e materiais pouco solúveis em água (por exemplo, alguns excipientes como talco e amido) sem reter o princípio ativo (HMT) do medicamento. A análise quantitativa do eluato ([Tabela 02](#)) mostrou que a HMT não é retida pelo algodão nas condições descritas.

Tabela 02. Valores de HMT presentes em produtos farmacêuticos comerciais obtidos pelo método proposto e por titulação potenciométrica.

Amostra (fabricante)	Valor	Método Proposto ^a		Titulação Potenciométrica ^a	
	Nominal (mg) ^b	Encontrado (mg) ^b	Recobrimento (%)	Encontrado (mg) ^b	Recobrimento (%)
Cystex® (EMS)	250	260,5	104,2 ± 0,1	256,5	102,6 ± 0,1
Urosalin® (Herald's)	120	123,6	103,0 ± 0,8	124,8	104,0 ± 0,9
Sepurin® (Gross)	120	121,6	101,3 ± 2,1	121,6	101,3 ± 2,4

a) média de três determinações.

b) conteúdo por comprimido nas amostras.

® = marca registrada.

A metodologia proposta foi aplicada aos medicamentos apresentados na [Tabela 01](#) e os resultados constam da [Tabela 02](#).

Discussão:

Como já mencionado anteriormente, a aplicação da volumetria ácido-base por retorno com auxílio de indicadores às amostras contendo corantes é inviável, pois os mesmos interferem severamente na visualização do ponto final.

Experimentos preliminares²³ com adsorventes clássicos para azo-corantes (Ponceau Red e Bordeaux Red), fenotiazínicos (azul de metileno), acridinas (acriflavina), incluindo sílica⁷, sílica modificada¹⁹ e fosfato de zircônio¹⁸ mostraram que estes adsorventes são realmente efetivos na remoção dos corantes citados. Entretanto, a utilização desses materiais implica em empacotamento de coluna, o que torna o procedimento bastante moroso e tedioso.

Procuramos então encontrar um procedimento mais simples, rápido e de baixo custo para ser utilizado e para isso testamos outros materiais como lã natural de ovelhas e algodão. Foi encontrado que uma coluna de algodão seco (preparada como já descrito na metodologia) remove efetivamente a mistura corante da solução teste, apesar do fato de nenhum dos corantes considerados ter forte afinidade pelas fibras do algodão⁵.

Após a análise quantitativa do eluato verificamos que a HMT não é retida pelo algodão, sob as condições descritas para a remoção de corantes.

A metodologia simplificada foi aplicada com sucesso às amostras de medicamentos contendo HMT

e corantes em sua composição. Os resultados obtidos mostraram-se reprodutíveis e compararam-se muito favoravelmente com aqueles obtidos por titulação potenciométrica.

CONCLUSÃO:

O método proposto foi aplicado com sucesso às amostras de medicamentos disponíveis comercialmente contendo HMT e corantes. A solução encontrada para a remoção dos corantes sem a retenção do princípio ativo (HMT) mostrou-se quantitativa, inédita, operacionalmente simples e de baixo custo, sem a necessidade de usar equipamentos sofisticados ou extração por solventes para a remoção dos corantes. O kit proposto pode ser adquirido em qualquer farmácia.

A metodologia desenvolvida, quando comparada com o único procedimento da literatura¹⁷ que descreve a determinação de HMT simultaneamente com azul de metileno por espectrofotometria UV derivativa, mostrou ser economicamente viável e reprodutível, podendo ser executada sem a utilização de equipamento sofisticado.

AGRADECIMENTOS:

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processos: 99/05333-9, 99/09376-4 e 97/01953-7), ao CNPq e a CAPES pelo suporte financeiro.

À Maria Aparecida Polli Silvestre pelo apoio técnico.

CRUZ, S.H. et al. Development of a simple methodology for hexamethylenetetramine (HTM) analysis in drugs containing dyes in its formulation. *Ecl. Quím.* (São Paulo) , v.26, p. , 2001.

ABSTRACT: In the present work a simplified methodology for hexamethylenetetramine analysis in pharmaceutical formulations in the presence of dyes (methylene-blue, ponceau Red, bordeaux Red, acriflavine), followed by acid-base titration using indicators is proposed. The proposed method was applied to commercial samples and the analytical results obtained for these products compared favorably with the results obtained by means of potentiometric titration. Recoveries were within 101,3 – 104,2 %, with standard deviations ranging from 0,1 to 2,1%.

KEY-WORDS: Hexamine, methylene-blue, pharmaceutical preparations, volumetric determination.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1 BIRYUK, I. A.; PETRENKO, V. V. Spectrophotometric determination of hexamethylenetetramine by reaction with ninhydrin. Zaparozh' e Medical Institute. *Z. Anal. Khim.*, v.48, n.1, p.187-9, 1993.

[[Links](#)]

- 2 DOHNAL, J.; VYTRAS, K.; JELINEK, I.; VOLKOVA, Z.; WOHLGEMUTHOVA, H. Methenamine content determination the enteric-coated tablets of methenamine hippurate by titrating with sodium tetraphenylborate by ion-selective electrode. *Cesk-Farm.*, v.38, n.2, p.56-9, 1989. In: Anal. Abstr. Abstr. 1980-2000. Abstract n. 5202E00020. ON-LINE. [[Links](#)]
- 3 DOW, M. L. Semiautomated colorimetric determination of methenamine and methenamine mandelate in tablets. *J. A.O.A.C.*, vol.56, n.3, p.647-52, 1973. [[Links](#)]
- 4 GAGLIA, C. A. Jr.; GOSSER, L.A.; CHAFETZ, L. Methenamine mandelate assay procedures based on a 2:1 silver nitrate-methenamine complex. *Anal. Chem.*, v.44, p.1690-2, 1972. [[Links](#)]
- 5 GORDON, P.F.; GREGORY, P. *Organic chemistry in colour*. Berlin and New York: Springer-Verlag. 1983. p. 262-72. [[Links](#)]
- 6 HARDMAN, J. G.; GILMAN A. G.; LIMBRID, L. E. In: (Eds.) *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 9th ed. WONSIEWICZ, J. M. And MACCURDY, P. New York: Mc Graw-Hill. 1996. p.1068-9. [[Links](#)]
- 7 ILER, R. K. *The chemistry of silica*. New York: Wiley. 1979. 687p. [[Links](#)]
- 8 KARTSOVA, L. A.; MAKAROVA, Y. L.; STOLIAROV, B. V. Selective gas-cromatographic determination of formaldehyde in air . *J. Anal. Chem.*, v. 52, n. 4, p 337-40, 1997. [[Links](#)]
- 9 KOUPPARIS, M. A.; EFSTATHIOU, C. E.; HADJIIOANNOU, T. P. Kinetic determination of formaldehyde and hexamethylenetetramine with a cyanide-selective electrode. *Anal. Chim. Acta*, v.107, p.91-100, 1979. [[Links](#)]
- 10 LEVIN, J. O.; FANGMARK, I. High-performance liquid cromatographic determination of hexamethylenetetramine in air. *Analyst*, v.113, p.511-3, 1988. [[Links](#)]
- 11 LIM, J.K.; CHEN, C. C. C. Spectrophotometric determination of methenamine and its salts by 2-hidrazinobenzothiazole. *J. Pharm. Sci.*, v.62, p.1503-4, 1973. [[Links](#)]
- 12 MADSEN, G.L.; CRUMRINE, D. S.; JASELSKIS, B. Proton nuclear magnetic ressonance determination of hexamethylenetetramine in presence of formaldehyde and urine. *Analyst*, v.121, p.567-70, 1996. [[Links](#)]
- 13 MADSEN, G.L.; JASELKIS, B. Spectrophotometric determination of hexamethylenetetramine, *Analyst*, v.117, p.1785-8, 1992. [[Links](#)]
- 14 MELO, J. M. S. *Dicionário de especialidades farmacêuticas*. 27.ed. Rio de Janeiro: Edit Publicações Centíficas, 1998. p.105. [[Links](#)]
- 15 METHENAMINE. Disponível em <http://www.mayohealth.org/usp/html/202075.htm>. Acesso em 02/10/2000. [[Links](#)]
- 16 MIRZA, T.; GEORGE, R. C.; BODENMILLER, J. R.; BELANICH, S. A. Capillary gas cromatographic assay of residual methenamine hippurate in equipment cleaning validation swabs. *J. Pharm. Biom. Anal*, v.16, n.6, p939-50, 1998. [[Links](#)]
- 17 ONUR, F.; ACAR, N. Simultaneous determination of methylene blue, hexamethylenetetramine

and resorcinol in pharmaceuticals formulations by first derivative UV spectrophotometry. *Int. J. Pharm.*, v.78, n.1, p.89-91, 1992. [[Links](#)]

18 PESSOA, C.A.; GUSHIKEM, Y.; KUBOTA, L.T.; GORTON, L.; Preliminary electrochemical study of phenothiazines and phenoxazines immobilized on zirconium phosphate. *J. Electroanal. Chem.*, v.431, n.1, p.23-7, 1997. [[Links](#)]

19 ROCHA R.F.; ROSATTO, S.S.; BRUNS, R.E.; KUBOTA, L.T. Factorial design optimization of redox properties of methylene blue adsorbed on a modified silica gel surface. *J. Electroanal. Chem.*, v.433, n.1-2, p.73-6, 1997. [[Links](#)]

20 SLUSANSCHI, H. Gravimetric determination of formaldehyde and hexamethylenetetramine with dimedone. *Z. Lebensm-Untersuch u-Forsch*, v.112, p.350-1, 1960. [[Links](#)]

21 STROM, J. G.; JUM, H. W. GLC determination of methenamine in tablets. *J. Pharm. Sci.*, v.66, p.589-90, 1977. [[Links](#)]

22 TAHA, A. M.; EI-RABBAT, N. A.; FATTAH, A. M. Spectrophotometric assay of hexamethylenetetramine. *Analyst*, v.105, p.568-74, 1980. [[Links](#)]

23 TININIS, A. G.; LEANDRO, A.; PEZZA, H. R.; MELIOS, C. B.; PEZZA, L. Rapid spot test analysis for the detection of urotropine in pharmaceutical preparations. *Anal. Lett.*, v.33, n.14, p.2901-12, 2000. [[Links](#)]

24 TURCZAN, J. W.; GOLDWITZ, B. A. Nuclear magnetic-resonance analysis of pharmaceuticals .9. methenamine and methenamine mandelate in tablets. *J. A.O.A.C.*, v.56, n.3, p.669-73, 1973. [[Links](#)]

25 UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. *The United States pharmacopeia: The national formulary: methenamine*. 23.ed. Revision. Rockville: 1995. p.976-9. [[Links](#)]

26 VOGEL, A. *Análise inorgânica quantitativa*. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara. 1986. [[Links](#)]

27 WINDHOLZ, M.(Ed.). *The merck index*. Raway: Merck, 1976. p.778. [[Links](#)]

28 ZHANTALAI, B. P.; RUCH'EVA, N. I. Polarographic determination of hexamethylenetetramine. *Zh. Prikl. Khim.*, v.39, n.10, p.2339-43, 1966. In: *Chem. Abstr.*, v.66, 16416p, 1967. [[Links](#)]

Recebido em 8.3.2001.

Aceito em 16.4.2001.

* Instituto de Química de Araraquara – Universidade Estadual Paulista – 14800-900 – Araraquara – SP. E-mail: hrpezza@iq.unesp.br