

Infarma

Informativo Profissional do Conselho Federal de Farmácia

INFARMA • BRASÍLIA • v.19 • 3/4, 2007

ISSN 0104-0219



**Conselho
Federal de
Farmácia**

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AÇÃO FARMACOLÓGICA DE POLISSACARÍDEOS SULFATADOS EXTRAÍDOS DA ALGA MARINHA AMANSLA MULTIFIDA

*Leonardo Augusto Rêgo Souza; Tarciana Carvalho Gurgel Azevedo
Fernando Roberto Ferreira Silva; Maria Leila Cardoso
Caroline Addison Carvalho Xavier; Hugo Alexandre Oliveira Rocha
Celina Maria Pinto Guerra Dore; Edda Lisboa Leite*

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA SOBRE O TRANSPORTE DE MEDICAMENTOS POR MODAL RODOVIÁRIO

Sonja Helena Madeira Macedo; Tatiane Ramos López García

INFLUÊNCIA DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS SOBRE O TEMPO DE DESINTEGRAÇÃO DE COMPRIMIDOS DE PARACETAMOL

*Manoelito Coelho dos Santos Júnior; Edimar Caetité Júnior
Anibal de Freitas Santos Júnior*

ASSOCIAÇÃO DE ÉSTERES EMOLIENTES À AVOBENZONA

Daniela Ferreira Angelo; Nádya Carolina Garcia Bello; Márcio Ferrari

SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS DE INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO DE PACIENTES DE HOSPITAL DE BELÉM (PA)

*José Maria dos Santos Vieira; Ednei Charles da Cruz Amador
Felipe Pinto de Oliveira; Maria Aparecida de Abreu Netto
Antonia Benedita Rodrigues Vieira*

VALIDADE DE MEDICAMENTOS. ÊNFASE EM FÁRMACOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE DOENÇAS REUMATOLÓGICAS

L. B. Leal; M. C. T. Silva; D. P. Santana

VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA PARA HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO EM SUSPENSÃO ORAL

*João César Ferreira de Araújo; Crescencio Andrade Silva Filho
Gustavo Luiz B. Xavier Cardoso; Priscilla Rodrigues*

Publicação do Conselho Federal de Farmácia (CFF) voltada aos profissionais farmacêuticos. É permitida a reprodução total ou parcial das matérias desta edição, desde que citada a fonte. Conceitos emitidos em artigos assinados não refletem necessariamente a opinião da revista ou do Conselho Federal de Farmácia (CFF).

COORDENAÇÃO

*Prof. Dr. Anselmo Gomes de Oliveira
Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Unesp
Grupo de Sistemas Biomiméticos – Fármacos
Endereço: Rodovia Araraquara-Jaú – km 01
Araraquara – São Paulo – Brasil
CEP 14801-902
E-mail: infarma@cff.org.br*

*Jornalista Responsável:
Aloísio Brandão – RP 1.390/07/65v/DF*

NORMAS PARA APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS

Informações gerais

A *Infarma*, sessão da revista **PHARMACIA BRASILEIRA**, é voltada exclusivamente à publicação de artigos, revisões, resenhas, ensaios e traduções técnico-científicos na área farmacêutica. Trabalhos cujos assuntos sejam de interesse da profissão, dirigidos à prática ou à formação continuada. Só serão aceitas resenhas de livros que tenham sido publicados, no Brasil, nos dois últimos anos, e no exterior, nos quatro últimos anos.

Os trabalhos deverão ser redigidos em português. É permitida a sua reprodução em outras publicações ou a sua tradução para outro idioma somente com a autorização prévia do representante legal do Conselho Federal de Farmácia, órgão responsável pela revista *Infarma*.

PREPARAÇÃO DOS ORIGINAIS

Apresentação. Os trabalhos devem ser apresentados em arquivo eletrônico e encaminhados exclusivamente através do site www.cff.org.br, menu "Pharmacia Brasileira", no formulário do link [Clique aqui para enviar seu trabalho à infarma](#). Artigos submetidos, por outra via, somente serão considerados, caso a cidade de origem dos autores não tenha meio de comunicação por Internet. Neste caso, os arquivos poderão ser encaminhados em disquetes acompanhados do arquivo *printer* (cópia impressa fiel, do disquete), digitados no programa *Word for Windows*.

Os textos deverão ser apresentados em lauda-padrão A4, espaços duplos, com margem superior e inferior de 2,5cm e margem direita e esquerda de 3cm; parágrafo justificado e não hifenizado, digitados usando fonte *Times New Roman* – tamanho 12. Os textos devem ter, no mínimo, cinco, e no máximo 25, páginas. Os artigos que estiverem fora dessas especificações não serão considerados para análise.

Estrutura do trabalho. Os trabalhos devem obedecer à seguinte seqüência: título; autores (por extenso e apenas o sobrenome em maiúscula); filiação científica dos autores (indicar a instituição ou o departamento, instituto ou faculdade, universidade-sigla, CEP, Cidade, Estado, País, e-mail do autor responsável); texto (introdução, material e métodos, resultados, discussão e conclusão); agradecimentos; referências bibliográficas (todos os trabalhos citados no texto). O autor responsável pela publicação deve ser expressamente indicado entre os colaboradores.

Referências bibliográficas. Deverão ser relacionadas em ordem alfabética pelo sobrenome do primeiro autor, seguindo a NBR 10520 de 2001 e NBR 6023 de 2000, da ABNT. A seguir, são transcritos alguns exemplos:

• Livros e outras monografias

KIBBE, A.H. (Ed.) *Handbook of pharmaceutical excipients*. 3. Ed. Washington: Pharmaceutical Press, 2000. 665p.

FARMACOPÉIA brasileira, 4. Ed., São Paulo: Atheneu, 1988. pte. 1, 526p.

• Capítulos de livros

FIGE, E.F.; HAGEN, T.A. Pré-formulação. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.K. *Teoria e prática na indústria farmacêutica*. Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2001. p.295-340.

• Teses e dissertações

PERES-PERES, P. *Obtenção de sistema multiparticulado flutuante de metilcelulose e ftalato de hidroxipropilcelulose de liberação controlada utilizando rifampicina como fármaco modelo*. 2001. 91f. Dissertação (Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista-Unesp, Araraquara.

• Artigos de periódicos

Abreviaturas. Os títulos de periódicos deverão ser abreviados conforme o *Biological Abstracts, Chemical Abstracts, Index Medicus, Current Contents*.

Exemplo:

LIMA, E.M.; OLIVEIRA, A.G. Tissue tolerance of diclofenac sodium encapsulated in liposomes after intramuscular administration. *Drug Dev. Ind. Pharm.* v.28, p.673-80, 2002.

• Trabalho de congresso ou similar (publicado)

FONSECA, S.G.C.; CASTRO, R.F.; SANTANA, D.P. Validation of analytical methodology for stability evaluation of lapachol in solution. In: VI PHARMATECH: ANUAL MEETING OF THE SBTF, 2001, Recife. *Proceedings of VI Pharmatech*, Recife: SBTF, 2001. p.336-337.

• Manuais

BRASÍLIA. Ministério da Fazenda. Secretaria do Tesouro Nacional. **Sistema integrado de administração financeira do governo federal**. Brasília, 1996. 162 p. (Manual SIAF, 5).

• Citações da Internet

BRASIL. Conselho Federal de Farmácia. Resolução 357. Disponível em: http://www.cff.org.br/legislação/resoluções/res_357_2001.htm. Acesso em: 11 jan. 2004.

www.cff.org.br/legislação/resoluções/res_357_2001.htm. Acesso em: 11 jan. 2004.

• Citação no texto

A citação de autores no texto (quando necessária) deverá ser feita pelo sobrenome do primeiro autor. No caso de dois autores, os sobrenomes devem ser separados por &. Mais de dois autores, indicar apenas o sobrenome do primeiro seguido de et al., e pelo ano da publicação.

• Anexos e/ou apêndices

Serão incluídos somente, quando imprescindíveis à compreensão do texto.

Tabelas. Devem ser numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, encaixadas pelo título e inseridas diretamente no texto nos locais apropriados.

Figuras. Desenhos, gráficos, mapas, esquemas, fórmulas, modelos (em papel vegetal e tinta nanquim, ou computador); fotografias (em papel brilhante); radiografias e cromos (em forma de fotografia). As figuras e suas legendas devem ser claramente legíveis, após sua redução no texto impresso de 10 X 17cm. Devem ser inseridas diretamente nos locais em que aparecerão no texto. As legendas deverão ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos e iniciadas pelo termo FIGURA, seguidas pelo número correspondente. As figuras devem ser inseridas, quando estritamente necessárias para a compreensão do texto e não podem caracterizar repetições de dados de tabelas.

Unidades de medida e símbolos. Devem restringir-se apenas àqueles usados convencionalmente ou sancionados pelo uso. Unidades não-usuais devem ser claramente definidas no texto. Nomes dos fármacos devem ser citados, de acordo com a DCB e nomes comerciais devem ser citados entre parênteses.

RESPONSABILIDADE

Os dados e conceitos emitidos nos trabalhos, a exatidão do conteúdo do texto e das referências bibliográficas e informações extraídas de outras fontes com reserva de direitos autorais são de inteira responsabilidade dos autores do texto. Os trâmites legais para a reprodução de publicações traduzidas ou utilização de ilustrações retiradas de outras publicações serão de inteira responsabilidade dos autores. Os trabalhos que não se enquadrarem nessas normas serão devolvidos aos autores.

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E AÇÃO FARMACOLÓGICA DE POLISSACARÍDEOS SULFATADOS EXTRAÍDOS DA ALGA MARINHA *AMANSLA MULTIFIDA*

LEONARDO AUGUSTO RÊGO SOUZA¹
TARCIANA CARVALHO GURGEL AZEVEDO²
FERNANDO ROBERTO FERREIRA SILVA²
MARIA LEILA CARDOSO²
CAROLINE ADDISON CARVALHO XAVIER²
HUGO ALEXANDRE OLIVEIRA ROCHA²
CELINA MARIA PINTO GUERRA DORE²
EDDA LISBOA LEITE²

1. Graduando do curso de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Natal, RN.
2. Universidade Federal do Rio Grande do Norte, UFRN, Centro de Biociências, Campus Universitário, Natal, RN.

Autor responsável: E.L. Leite. Email: eddaleite@cb.ufrn.br

INTRODUÇÃO

As algas marinhas são de extrema importância para o ecossistema, pois são responsáveis por quase todo oxigênio produzido em nosso planeta. Elas podem apresentar diversas utilidades no dia-dia, seja na alimentação, na indústria, agricultura, microbiologia e cosméticos. As algas estão classificadas em três grupos principais: *Clorofíceas* ou algas verdes, *Feofíceas* ou algas pardas e *Rodofíceas* ou algas vermelhas. Esta última vem despertando o interesse de pesquisadores devido o largo emprego na indústria alimentícia devido aos polissacarídeos.

As carragenanas são polissacarídeos extraídos de algas vermelhas, descobertas no século passado, a partir de *Chondrus crispus*. Esta espécie de alga era bastante utilizada pela população de Carrageen, cidade costeira da Irlanda, como agente espessante (substância que aumenta a viscosidade de um alimento), ou ainda, devido a sua funcionalidade referente à viscosidade e capacidade de gelificação, conferindo textura aos alimentos caseiros. Embora o primeiro estudo publicado sobre carragenanas tenha sido realizado em 1844 (Schmidt, 1955), até o presente estes polissacarídeos tem sido objeto de estudos com respeito a sua estrutura química, propriedades físico-químicas, variações intra e interespecíficas e aplicações industriais.

Vários estudos demonstraram diversas atividades farmacológicas desses polímeros sulfatados de algas vermelhas, dentre elas destacam-se: atividade antimicrobiana, antiviral e anticoagulante. Além disso, as carragenanas vêm sendo utilizadas como ferramentas para investigar o processo inflamatório em ratos e camundongos (Levy, 1969), uma vez que são indutoras deste processo. Quando injetadas subcutaneamente na superfície plantar de uma

pata de rato, provocam uma inflamação característica, que pode ser usada para quantificar o poder de ação de drogas antiinflamatórias (Henriques et al., 1987; Salvemini et al., 1996; Sammons et al., 2000, Cuzzocrea et al., 1998). Os polissacarídeos de algas vermelhas são constituídos basicamente de monômeros sulfatados de D-galactose ligados alternadamente com α -(1 \rightarrow 3) e β -(1 \rightarrow 4). Além da galactose e sulfato, outros resíduos de carboidratos como xilose, glicose, ácidos urônicos podem estar presentes em baixas quantidades em preparações da carragenanas (Van de Valde et al., 2004). Estas galactanas sulfatadas são classificadas de acordo com a presença de 3,6-anidrogactose, posição e número de grupos sulfato (Rees, 1969; McCandless & Craigie 1979).

Neste trabalho, foram extraídos polissacarídeos da alga vermelha *Amansia multifida*, comum no litoral brasileiro, com o objetivo de caracterizar quimicamente por eletroforese os seus constituintes. Subseqüentemente, nosso objetivo foi o de caracterizar a possível propriedade farmacológica anticoagulante destes polissacarídeos.

MATERIAL E MÉTODOS

A alga utilizada para o estudo foi coletada na praia de Búzios (RN) durante a maré baixa, sendo posteriormente catalogada pela Dra. Heliane Marinho Soriano do Departamento de Oceanografia e Limnologia da UFRN. Logo após a coleta, as algas foram limpas e secas em estufa a 45°C, depois foram trituradas e submetidas a três deslipidações com três volumes de acetona durante 6 horas, para que houvesse a retirada de contaminantes lipídicos e polifenólicos. Após este procedimento a acetona foi decantada e

a alga seca a temperatura ambiente. A partir deste ponto obteve-se o que chamamos de pó cetônico o qual foi submetido à extração das frações polissacarídeas.

Foi realizada com o pó cetônico uma proteólise para a retirada de substâncias protéicas, aumentando a solubilidade dos polissacarídeos, para isso foi utilizado enzima maxatase (0,15 mg/g de alga) em 600mL de solução de NaCl 0,25M à 60°C em pH 8,0 durante 12 horas. Em seguida, o material foi centrifugado (1000 x g) e o sobrenadante obtido (cru de polissacarídeos) foi fracionado com volumes crescentes de acetona, a fim de obter diferentes frações polissacarídicas. De início foi adicionado 1,0 volume de acetona (Merck) à solução a 4°C durante 18 horas. Após centrifugação a 10.000 x g por 10 minutos, o precipitado foi secado a vácuo. Este processo foi repetido para obtenção de três frações: F1, F2 e F3. Para obtenção da fração FT foi adicionado ao extrato de polissacarídeos 5,0 volumes de acetona e resto do processo foi repetido. Todo o esquema de fracionamento encontra-se na figura 1.



Figura 1. Esquema de fracionamento das frações polissacarídicas da alga *Amansia multifida*

Determinações químicas

A dosagem de açúcares totais foi realizada pelo método do fenol sulfúrico (Dubois et al., 1956), empregando-se como padrão L-galactose como monossacarídeo padrão. As leituras foram realizadas a 490 nm. As proteínas foram determinadas com o reagente de Croomassie blue R segundo o método de Spector (1978) e a leitura realizada a 595 nm, empregando-se como padrão albumina de soro bovina. O teor de sulfato total foi determinado, após hidrólise ácida (HCl 8N, 6 horas, 100°C), por turbidimetria pelo método da gelatina-bário (Dodgson & Price, 1962). O sulfato de sódio (1 mg/mL) foi utilizado como padrão sendo submetido às mesmas condições das amostras em estudo.

Eletroforese em gel de agarose foi realizada pelo método descrito por Dietrich & Dietrich.

Espectroscopia de infravermelho

A espectroscopia de infravermelho foi realizada em espectrofotômetro FT-IR ABB Bomem modelo MB 104, de 4000 a 400 cm⁻¹. Os polissacarídeos (5 mg) foram analisados após secagem sob a forma de pastilha de KBr.

Atividade anticoagulante

Atividade anticoagulante foi realizada pelo tempo parcial de tromboplastina ativada (APTT), que está relacionado com a via intrínseca da coagulação. O teste foi realizado com os "kits" obtidos comercialmente (Labtest). Além das frações da alga *Amansia multifida* foram utilizadas mais três algas comerciais chamadas de kappa (Tipo III, C-1263) – extraída da alga *Eucheuma cottonii*, lambda (Tipo VI, C-3889) – extraída das algas *Gigartina aciculaire* e *Gigartina pisillata* e iota (Tipo V, C-3799) – extraída da alga *Eucheuma spinosa*.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após o processo de extração obtivemos os diferentes polissacarídeos sulfatados que denominamos de F1, F2, F3 e FT. As análises químicas mostraram teores de polissacarídeos, proteínas e sulfato e todas as frações. Na tabela 1 encontram-se os resultados das análises.

Tabela 1. Análises químicas das frações polissacarídicas da alga *Amansia multifida*.

Frações de <i>A. multifida</i>	Açúcares totais ^a (%)	Proteínas ^b (%)	Sulfato ^c (%)
FT	54.3	10.7	40.0
F1	86.5	7.0	6.5
F2	54.6	10.8	34.6
F3	29.5	11.7	58.9

a – Spector, 1978.

b – Dubois et al., 1956.

c – Método turbidimétrico (Dodgson e Price, 1962).

Os resultados demonstram uma grande quantidade de polissacarídeos nas amostras, principalmente na F1 com 86,5%. Por outro lado, os teores de proteínas estavam compreendidos entre 7,0 a 11,66% (tabela 1). Os baixos teores de proteínas observados revelaram uma boa eficácia na ação da enzima proteolítica. A tabela 1 mostra também a presença de sulfato em todas as frações. As frações FT e F3 apresentaram 40% e 58,9%, respectivamente. Por outro lado, a fração F1 apresentou menor quantidade de sulfato (6,5%) em relação às demais frações.

A eletroforese em gel de agarose em tampão PDA (1,3 diâmino propano acetato) é um importante método, pois nos fornece dados sobre as cargas e homogeneidade dos polímeros. As estruturas sulfatadas interagem com a diamina e são posteriormente precipitadas com o cetavlon (CTV 0,1%). A visualização é feita com um corante denominado de azul de toluidina. Os polissacarídeos, objetos deste estudo, apresentaram certa polidispersividade, comuns em carboidratos complexos e diferentes migrações eletroforéticas. Na figura 2, estão demonstrados os perfis eletroforéticos das quatro frações de carragenanas.

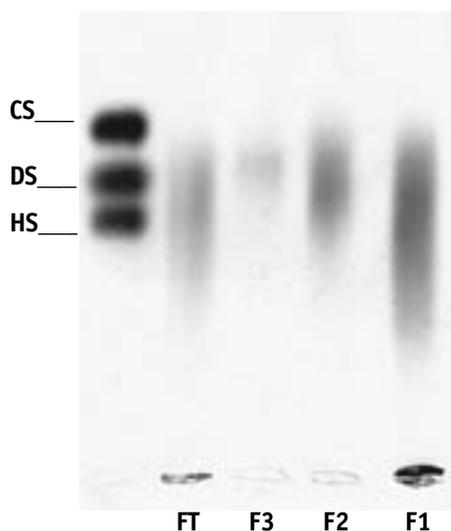


Figura 2. Eletroforese em gel de agarose em tampão PDA das frações da *Amansia multifida*. Há uma polidispersão nas frações, o que comprova a presença de mais de uma população de polissacarídeos. **CS:** Condroitim sulfato, **HS:** Heparan sulfato, **DS:** Dermatam sulfato.

A espectroscopia de infravermelho (IR) tem sido largamente usada na caracterização de diversos compostos, inclusive, carragenanas. Isto é de fundamental importância não só na caracterização de alguns grupos funcionais, como nas modificações químicas induzidas em alguns polímeros. É um método rápido, não destrutivo e que requer apenas pequena quantidade de amostra (5mg). Os resultados obtidos neste trabalho demonstraram absorção encontrada nas frações F3 e FT (tabela 2).

Os espectros de infravermelho das frações F3 e FT utilizadas nesse trabalho são mostradas na figura 3. Nos dois espectros observam-se bandas de absorção típicas por volta de 1290 cm^{-1} , que corresponde aos grupos éster-sulfato (tabela 2). Apresentam também em ambos absorção na região de 843 cm^{-1} , que corresponde a galactose-4-sulfato, em 908 cm^{-1} são atribuídas ao grupo C-6 na β D-galactose, também encontrada nas duas frações polissacarídicas. O grupo funcional $\text{O}=\text{S}=\text{O}$ pode ser evidenciado por duas absorções de ondas (1290 e 594 cm^{-1}) nas duas frações, confirmando mais ainda a presença desse grupo funcionas nas amostras. A presença do grupamento sulfato nestes polissacarídeos e confirmada pela absorção na região de 1400 cm^{-1} .

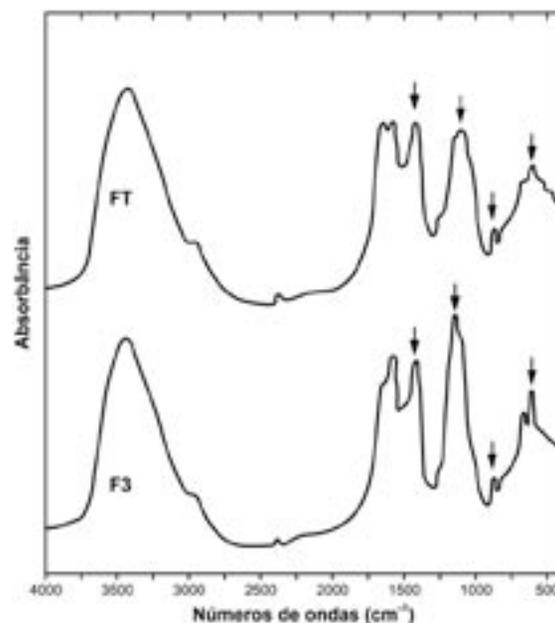


Figura 3. Espectro de infravermelho das frações F3 e FT.

Tabela 2. Bandas absorvidas no espectro infravermelho nas frações F3 e FT e seus respectivos grupos funcionais

Comprimento de ondas (cm^{-1})	Grupos funcionais	Referências
3400-3000	O-H (deslocamento)	B
1400	Grupo Sulfato	E
1100	S-O (deslocamento assimétrico)	C
866	Grupo $\text{C}_4\text{-O-S}$ da galactose (deslocam.)	A, B
594	$\text{O}=\text{S}=\text{O}$	B
908	Grupo C6 da D-galactose	B, D

- A – CHOPIN & WHALEN, 1993.
- B – SEKKAL & LEGRAND, 1993.
- C – BELTON, et al., 1989.
- D – MATSUHIRO & RIVAS, 1993.
- E – TURQUOIS, T et al., 1996.

O uso de compostos anticoagulantes é muito comum na clínica médica. Anticoagulantes como heparina são bastante empregados, embora apresentem efeitos colaterais como trombocitopenia e hemorragias. Por outro lado, por ser de origem animal existe a possibilidade de conterem contaminantes, como príons (Rocha et al., 2005). Isto justifica a busca por novas drogas que não apresentem efeitos sem grandes prejuízos para a saúde do paciente.

Com o intuito de verificar uma provável atividade anticoagulante destes compostos foram feitos testes de APTT (tempo parcial de tromboplastina ativada) com o uso de "kits" comerciais (Labtest). Os resultados obtidos das frações da *Amansia multifida* e das algas comerciais estão resumidos na figura 4.

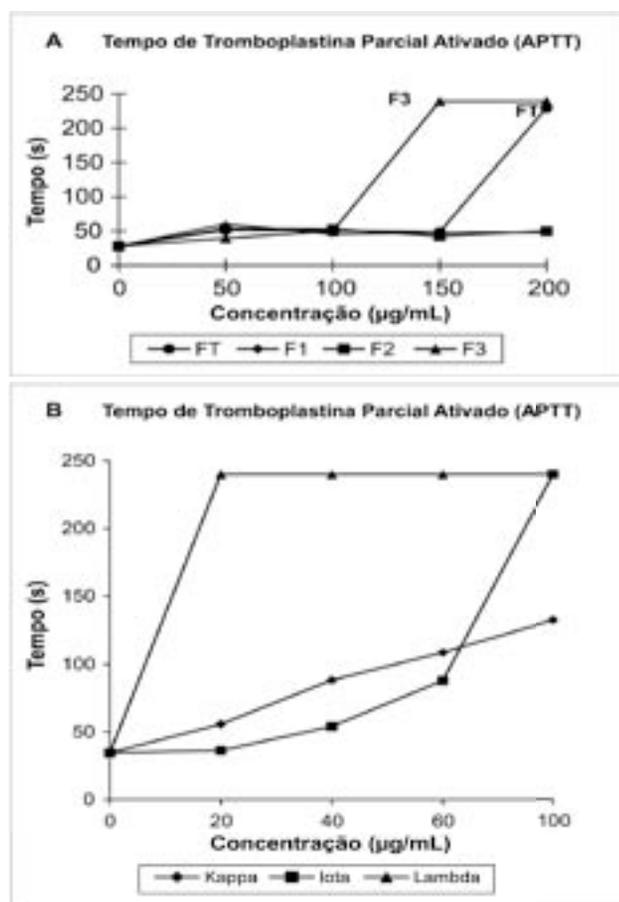


Figura 4. Avaliação da atividade anticoagulante das frações polissacarídicas das algas *Amansia multifida* (A) e carragenanas comerciais (B) na via intrínseca da cascata de coagulação (APTT).

A atividade anticoagulante dessas algas foi avaliada segundo o método APTT, como já descrito na metodologia, utilizando-se para isto plasma humano saudáveis. Com relação a *Amansia multifidas* os resultados mostram que apenas as frações F3 (150 µg/mL) e FT (200 µg/mL) apresentaram

atividade anticoagulante (240 s). No entanto, a FT requer uma concentração maior para apresentar o mesmo grau de atividade. Os três principais tipos de carragenanas industriais são as carragenanas comerciais lambda, kappa e iota. As duas últimas só apresentaram atividade anticoagulante (132,3 e 240 s, respectivamente) em uma concentração de 100 µg /mL, revelando uma atividade não encontrada nas frações da *A. multifida* a essa mesma concentração. A carragenana lambda apresentando maior atividade em relação as demais frações, com 240 s quando utilizou-se apenas 20 µg/mL.

CONCLUSÕES

As frações da alga aqui estudadas são formadas basicamente de polissacarídeos sulfatados, com baixa contaminação protéica. Isso demonstra uma boa eficácia do método de extração. Algumas das frações evidenciaram atividade farmacológica mostrando-se ser um composto com potencialidades anticoagulante. Outros ensaios farmacológicos estão sendo desenvolvidos em nosso laboratório com esta alga, a fim de se obter um maior conhecimento da utilidade farmacológica deste composto natural orgânico.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e CAPES pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BELTON, P. S.; GOODFELLOW, B. J.; WILSON, R. H. A Variable-Temperature Fourier Transform Infrared Study of Gelation in 1 – and K-Carrageenans. *Macromolecules*. v.22, p.1636–1642, 1989.
- CHOPIN, T.; WHALEN, E. A new rapid method for carrageenan identification by FT IR diffuse reflectance spectroscopy directly on dried, ground algal material. *Carbohydrate Research*. v.246, p.51-59, 1993.
- CUZZOCREA, S.; ZINGARELLI, B.; GILARD, E.; HAKE, P.; SALZMAN, A. L.; SZABÓ, C. Antiinflammatory effects of mercaptoethylguanidine, a combined inhibitor of nitric oxide synthase and peroxynitrite scavenger, in carrageenan-induced models of inflammation. *Free Radical Biological Medicine*. v.24, p.450-459, 1998.
- DIETRICH, C. P.; DIETRICH, S. M. C. Electrophoretic behavior of acidic mucopolysaccharides by agarose gel electrophoresis. *J Chromatogr.* v.130, p.299-304, 1977.
- DODGSON, K.S.; PRICE, R.G. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. *Biochem. J.* v.84, p.106-110, 1962.
- DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars, and related substances. *Anal. Chem.* v.28, p.350-356, 1956.

- HENRIQUES, M. G. M. O. et al. Mouse paw edema. A new model for inflammation? *Braz. J. Med. Res.* v. 20, p.243-249, 1987.
- LEVY, L. Carrageenan paw edema in the mouse. *Life Sci.* v.8, p.601-606, 1969.
- MATSUHIRO, B; RIVAS, P.; Second-derivative Fourier transform infrared spectra of seaweed galactans. *Journal of Applied Phycology.* v.5, p.45-51, 1993.
- MCCANDLESS, E.L. & CRAIGIE, J.S. A. *Rev. Plant Physiol.*v.30, p.41-53, 1979.
- RESS, D.A. *Carbohydr. Chem.* v.24. p.267-332, 1969.
- ROCHA, H. A. O. et al. Structural and Hemostatic Activities of a Sulfated Galactofucan from the Brown Alga *Spatoglossum schroederi*. *J. Biol. Chem.* v.280, p.41278-41288, 2005.
- SALVEMINI, D. et al. Nitric oxide: a key mediator in the early and late phase of carrageenan-induced rat paw inflammation. *Br. J. Pharmacol.* v.118, p.829-838, 1996.
- SAMMONS, J. M. et al. Carrageenan-induced thermal hyperalgesia in the mouse: role of nerve growth factor and the mitogen-activated protein kinase pathway. *Brain Research*, v.876, p.48-54, 2000.
- SCHIMIDT, C. 3,6-Anhydro-D-galactose as a constituent of kappa - carrageenin. *J. Amer. Chem. Soc.*, v.77, p.2837-2839, 1955.
- SEKKAL, M.; LEGRAND, P. A spectroscopic investigation of the carrageenans and agar in the 1500-100 cm⁻¹ spectral range. *Spectrochim. Acta.* v.49a, p.209-221, 1993.
- SPECTOR, J. Refinement of the coomassie blue method of protein quantification. A simple and linear spectrophotometric assay of 0.5 to 50µg of protein. *Anal. Biochem.* v. 86, p.142-143, 1978.
- TURQUOIS, T.; ACQUISTAPACE, S.; VERA, A. F.; WELTI, D. H. Composition of carrageenan blends inferred from ¹³C-NMR and infrared spectroscopic analysis. *Carbohydrate Polymers.* v.31, p.273, 1996.
- VAN DE VALDE, F.; PEREIRA, L.; ROLLEMA, H. S. The revised NMR chemical shift data of carrageenans. *Carbohydrate Research.* v.339, p.2309-2313, 2004.

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA SOBRE O TRANSPORTE DE MEDICAMENTOS POR MODAL RODOVIÁRIO

SONJA HELENA MADEIRA MACEDO¹
TATIANE RAMOS LÓPEZ GARCÍA²

1. Farmácia-Bioquímica, Mestre em Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Amazonas-UFAM.
2. Farmácia-Bioquímica, Mestre em Produção e Controle de Qualidade de Medicamentos e Cosméticos.

Autor responsável: S.H.M. Macedo E-mail: sonjahm@terra.com.br

INTRODUÇÃO

As normas farmacêuticas referentes às Boas Práticas de Fabricação (*current Good Manufacturing Practices-cGMP*) surgiram nos Estados Unidos, no ano de 1978, por meio do seu órgão regulador a *Food and Drug Administration (FDA)*, com o intuito de controlar os possíveis desvios no processo de fabricação de produtos farmacêuticos, veterinários e biológicos. Em 2002, além das medidas de inovação tecnológica, foram criados rigorosos programas de reestruturação regulatória, no sentido de se conhecer e orientar o fabricante quanto aos principais riscos de desvios de qualidade, padronizar os controles, elaborar um sistema de qualidade integrado, estabelecer cooperação internacional e de proteção à saúde pública (FDA, 2004). Esses cuidados existem porque, em se tratando de medicamentos, o consumidor não consegue identificar a qualidade do produto que pode-

rá afetar sua saúde, sendo esta atribuição responsabilidade dos órgãos reguladores e do fabricante.

No Brasil, entre 1997 e 1998, o escândalo da falsificação de medicamentos e a criação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em 1999, resultaram na elaboração de normas mais rigorosas no que diz respeito à fabricação, distribuição, transporte e comercialização de produtos farmacêuticos, dando origem a um novo processo na história brasileira no que tange à revisão e regulamentação das normas sanitárias.

As normas que regulamentam o Transporte de Medicamentos datam de 1976, porém somente a partir de 1998 é que houve a criação de novas e especificação de antigas normas que abrangem tanto os produtos termolábeis como os mantidos sob temperatura ambiente. Desde então, as empresas de transporte iniciaram a adequação regulatória de seus processos, no sentido de cumprir as

exigências técnico-sanitárias, realizar a melhoria dos serviços e se manter competitiva no mercado. Um dos itens mais importantes relacionado às Boas Práticas de Transporte de Produtos Farmacêuticos é a temperatura no processo de manuseio e transporte desses produtos (DUBOC, 2006; MACEDO, 2004).

Durante as etapas de operacionalização da carga a forma de acondicionamento e embalagem, condição do baú do veículo, quantidade de volumes e equipamentos utilizados, distância do trajeto, duração de viagem e de carregamento/descarregamento podem influenciar diretamente na perda da eficácia do produto, em virtude da oscilação de temperatura. Outros fatores devem ser considerados: a extensão territorial brasileira, as condições das estradas e a complexidade da infra-estrutura básica do setor de transporte rodoviário de carga (ROJAS & DATZ, 2003), aliadas às condições climáticas das diferentes regiões do país. Por isso ocorrem as dificuldades na padronização da temperatura dos veículos que transportam esses produtos.

Diante do exposto, o presente trabalho tem como objetivo realizar uma abordagem técnico-operacional voltada à realidade do transporte nacional de medicamentos e relacioná-las às Boas Práticas de Transporte preconizadas pelo órgão regulador sanitário, principalmente, no que se refere ao impacto que as variações de temperatura, em especial as extremas, podem causar às condições físico-químicas e microbiológicas dos produtos farmacêuticos.

MATERIAL E MÉTODO

Para obtenção dos valores de temperatura nas principais capitais do país, realizou-se consulta aos dados do INMET (Instituto Nacional de Meteorologia), equivalente ao período de 1961 a 1990. Posteriormente foram considerados os valores máximo e médio encontrados no período citado, sendo os mesmos relacionados com a duração média do trajeto de viagem por modal rodoviário, contemplado por transportadoras de grande porte.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Condições Climáticas do Brasil e Riscos Associados

Considerando os vários atributos que englobam a atividade de transporte, as variações de temperatura às quais os produtos são expostos é um dos fatores principais que pode comprometer a qualidade e eficácia no uso dos medicamentos. Uma das dificuldades para a realização de um controle efetivo de temperatura no trajeto de transporte são as variações climáticas das regiões e a extensão geográfica do Brasil. Dados do GEIPOP (Empresa Brasileira de Planejamento dos Transportes) do ano 2000, afirmam que cerca de 60% do movimento de cargas no país é através

do modal rodoviário, ou seja, o abastecimento de produtos básicos como alimentos e medicamentos dependem praticamente dessa vertente do setor de transportes, tornando o desenvolvimento de um sistema da qualidade itens primordiais. Segundo ROJAS & DATZ (2003), existe um grande risco de se ter um transporte incapaz de acompanhar o crescimento da demanda por qualidade, porque, em comparação com os países tecnologicamente mais avançados, o transporte no Brasil está aquém das exigências mundiais de qualidade, isto é, apresenta baixo grau de eficiência. Diante desse quadro, vale relacionar alguns atributos do transporte que interferem na qualidade do produto objeto deste artigo.

O Quadro 1 relaciona os valores médio e máximo de temperatura nas principais capitais do país no período de 1961 a 1990 (INMET, 2006), com a duração do trajeto de viagem, utilizado por transportadoras de médio e grande porte, originado no principal centro industrial de produção de medicamentos: a região da Grande São Paulo. A temperatura de conservação e manuseio dos medicamentos recomendada é de 15° a 30°C (ANVISA, 2005), porém são mostrados que capitais como Belém, Cuiabá, Manaus e Teresina apresentaram temperaturas acima de 32°C no período abordado. A falta de informações atualizadas sobre a temperatura nas capitais limita tal estudo comparativo, todavia, os dados obtidos já fornecem pontos importantes para discussão, especialmente se considerarmos o aquecimento global ocorrido nas últimas décadas.

Ressalta-se que no transporte de medicamentos em caminhões baú, que é mais comum no transporte rodoviário nacional, podem ocorrer diferenças de valores entre a temperatura externa e interna, com o veículo em movimento ou em estado estacionário, que são provocadas tanto pela temperatura ambiente quanto por outros fatores como a umidade do ar e a velocidade do vento. Estudos realizados na Região Nordeste observaram que, em algumas áreas no interior do baú dos veículos, os valores de temperatura passam 50 °C e atingem 90 % de umidade relativa (DUBOC, 2005). No entanto, como já referido anteriormente, tais valores oscilam ao longo do ano e do percurso, o que dificulta as avaliações climáticas do processo de transporte.

Quanto aos produtos perecíveis, que devem ser conservados de 2° a 8°C, estes são acondicionados em embalagens apropriadas com elementos frios para sua conservação, e devido a essa peculiaridade normalmente são utilizados ou trajetos curtos ou o transporte aéreo para sua entrega no destino. O uso de embalagens apropriadas faz com que o controle de temperatura, no âmbito da cadeia do frio, seja facilitado, porém as recomendações quanto ao critério de aceitação são tão rigorosas quanto para os produtos conservados sob temperatura ambiente.

Outro fator importante é o tempo de exposição em que o produto é submetido às condições fora dos parâme-

Quadro 1. Temperatura média, máxima e duração do trajeto rodoviário com origem na grande São Paulo para as principais capitais do Brasil.

Principais capitais por região	Temperatura média máxima em graus Celsius (1961 a 1990)*	Temperatura máxima em graus Celsius (1961 a 1990)*	Média de Duração do Trajeto com origem em SP**
Norte Manaus Belém	27,7 29,9	33,0 32,5	264 horas 72 horas
Nordeste Teresina São Luís Recife Fortaleza Salvador	29,0 27,3 26,7 27,5 26,9	36,9 31,9 30,9 30,8 30,0	72 horas 48 horas 60 horas 72 horas 48 horas
Centro-Oeste Brasília Cuiabá Campo Grande Goiânia	23,5 27,9 24,8 24,5	28,9 34,2 31,0 31,9	24 horas 36 horas 36 horas 21 horas
Sudeste Rio de Janeiro Belo Horizonte	26,8 23,8	30,4 29,1	6 horas 12 horas
Sul Porto Alegre Florianópolis Curitiba	24,9 25,0 20,9	30,2 28,7 26,9	24 horas 20 horas 6 horas

* Instituto Nacional de Meteorologia – INMET (6)

** Tempo médio utilizado por transportadoras rodoviárias de grande porte.

tros estabelecidos (DUBOC, 2006). Por exemplo, se consideradas as paradas e os picos de horários para chegada da carga ao destino também deve ser considerado o transporte nos horários noturnos, caso aplicável, para fins de qualquer avaliação. Pode-se perceber que o tempo de percurso até as principais capitais variam de seis até 72 horas, com exceção do trajeto até Manaus, AM, que utiliza o modal fluvial/lacustre para finalizar seu destino, além do descarregamento da carga que normalmente é demorado, pois depende principalmente da conferência dos volumes para liberação. Desta forma, conhecer os riscos reais do tempo de exposição do produto a determinadas temperaturas seria a condição ideal para o desenvolvimento de medidas de prevenção de desvios da qualidade do medicamento até seu uso. Nesse sentido, os setores envolvidos, fabricante, distribuidor, operador logístico, transportador, dispensador e consumidor, em conjunto poderão desenvolver um sistema de qualidade voltado para as Boas Práticas de Transporte e de proteção à saúde pública.

O estudo de monitoramento de temperatura, a que nos referimos mais adiante, é imprescindível para que se possa aprofundar a discussão acerca deste assunto.

Além das condições de limpeza dos veículos, conservação do produto e rastreabilidade são fatores primordiais para realização de um controle eficaz no serviço de transporte. Todavia, esse processo só será bem sucedido se as condições dos produtos farmacêuticos estiverem em perfeito estado quando de sua chegada ao destino final.

Manuseio e Conservação de Medicamentos

Medicamentos necessitam de condições específicas de conservação que variam de acordo com seu princípio ativo, excipiente, forma farmacêutica, embalagem e acondicionamento. Os métodos utilizados pelo fabricante para determinação dessas especificações, do prazo de validade e dos critérios de aceitação do produto têm como referência os Estudos de Estabilidade preconizados pelo órgão regulador.

De acordo com a Resolução RE Nº 01 ANVISA (2005), esses testes devem obedecer a parâmetros técnicos de avaliação de temperatura e umidade em dado tempo, com o objetivo de simular a exposição desses produtos durante o armazenamento e manuseio, bem como checar suas prováveis alterações farmacotécnicas e farmacológicas.

As conseqüências diretas ao medicamento, decorrentes de sua má conservação, estão relacionadas à estabilidade físico-química das formas farmacêuticas. Casos de reações de hidrólise e oxidação, por exemplo, refletem diretamente na diminuição do teor da substância ativa comprometendo o efeito terapêutico do medicamento (CONNORS et al., 1986).

O medicamento mal conservado leva riscos à saúde do paciente. Estes riscos estão associados à diminuição/ausência do efeito terapêutico e/ou à manifestação de eventos adversos, provocados pela presença dos subprodutos na fórmula farmacêutica. A estabilidade dos fármacos depende, portanto, em última instância, da manutenção das condições físico-químicas, preconizadas pelo fabricante, e

do monitoramento de toda a cadeia de armazenagem, distribuição e transporte.

De acordo com OLIVEIRA (2001), existem três etapas relacionadas à qualidade do medicamento. A primeira é a que envolve a produção industrial. Vale ressaltar que os testes de estabilidade dos medicamentos, necessários para se estabelecer o prazo de validade, são exigidos apenas na ocasião de registro do produto, supondo-se que, daí por diante, essa estabilidade vai se manter inalterada.

A segunda é a etapa de transporte do medicamento do setor industrial para a distribuidora e, daí, para as farmácias e drogarias.

A terceira etapa se refere à fase de prateleira nas farmácias e drogarias. Essa condição, além do calor, também pode proporcionar decomposição fotoquímica provocada pelos raios ultravioletas.

Com o advento da evolução tecnológica do setor farmacêutico a conservação de medicamentos nos últimos dez anos tem registrado melhorias, com a obtenção de fórmulas mais resistentes aos efeitos dos fatores externos sobre os produtos acabados (OLIVEIRA, 2001). Trata-se, portanto, de um grande avanço para a Farmacovigilância e Assistência Farmacêutica nos diversos pontos da cadeia do produto farmacêutico.

Monitoramento de Temperatura no Trajeto Rodoviário de Transporte de Medicamentos

São precárias as informações acerca do monitoramento das condições de temperatura no transporte rodoviário de medicamentos. Atualmente, esses estudos são realizados utilizando-se os “registradores de temperatura”, que permitem a programação da duração do trajeto e da leitura do registro em intervalos de tempo pré-estabelecidos. Para confiabilidade dos dados, esses equipamentos precisam estar devidamente calibrados e sua localização dentro do caminhão-baú e/ou do volume da carga tem que ser planejada. Uma vez realizada a coleta é necessário que um profissional capacitado efetue a análise dessa informação e elabore relatórios/protocolos de registros.

Considerando o quadro atual brasileiro para que as Boas Práticas no Transporte de produtos farmacêuticos sejam implementadas, urge que sejam realizadas pesquisas periódicas (coleta e avaliações dos dados de temperatura), e não apenas registros isolados, visto que essas informações podem não alterar a situação atual. Aliadas à pesquisa, como modo de obtenção de informações que podem subsidiar a diminuição dos potenciais riscos na exposição dos produtos farmacêuticos, é necessário que a legislação brasileira seja revista, de modo a acompanhar, de fato, as condições de chegada desses produtos ao consumidor. Vale ressaltar que já existem normas que amparam o controle e a segurança dos produtos transportados, porém as condições climáticas e operacionais das estradas brasileiras, já mencionadas, assim como as fragilidades da legislação vigentes tornam as Boas Práticas de Transporte um grande desafio.

CONCLUSÃO

A implantação das Boas Práticas de Transporte no Brasil está em processo de expansão e é primordial para garantir a eficácia e integridade dos produtos farmacêuticos comercializados no país. Reitera-se que a qualidade desses produtos depende da participação efetiva dos setores envolvidos em cada etapa da cadeia farmacêutica – da fabricação até a dispensação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 01 de 29 de julho de 2005. *Autoriza ad referendum*, a publicação do Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade.
- CONNORS, K.A.; AMIDON, G.L.; STELLA, V.J. *Chemical stability of pharmaceuticals: a handbook for pharmacists*. 2.ed. New York: John Wiley, 1986. p.82-93.
- DUBOC, M. O Transporte de Medicamentos e os Imprevistos não descritos em Literatura. *Revista Controle de Contaminação*. v.82, p.36-37, 2006.
- DUBOC, M. Validação de Transporte de Produtos com Temperatura Controlada. *Revista Controle de Contaminação*. v.77, p.16-18, 2005.
- FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. Pharmaceutical cGMP for the 21 st Century – A risk-based approach – Final Report. Department of Health and Human Services. September, 2004. Disponível em: http://www.fda.gov/cder/gmp/gmp2004/GMP_final-report2004.htm
- GEIPOT – Empresa Brasileira de Planejamento de Transportes – *Anuário Estatístico dos Transportes*. Disponível em: <http://www.geipot.gov.br>, Acesso em: 29 de agosto de 2006.
- INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. *Gráficos Climatológicos – 1961 a 1990*. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br>, Acesso em: 27 de agosto de 2006.
- MACEDO, S.H.M. Cuidados Necessários na Distribuição e Transporte de Medicamentos, Produtos para a Saúde e Farmoquímicos. *Revista do Farmacêutico*, Ed. CRF/SP, n. 71-72, São Paulo, 2004.
- OLIVEIRA, A. G. Estabilidade de Medicamentos: Realidade Brasileira. *Revista Pharmacia Brasileira*. v.20, p.4-8, jan/fev, 2001.
- ROJAS, A. & DATZ, D. Abordagem Sistêmica para Modelagem da Gestão do Transporte sob o Enfoque da Qualidade do Serviço. *Cadernos do IME – Série Informática*, v. 14, junho, 2003. Disponível em: <http://www.ime.uerj.br/cadernos/cadinf/vol 14>.

INFLUÊNCIA DE PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS SOBRE O TEMPO DE DESINTEGRAÇÃO DE COMPRIMIDOS DE PARACETAMOL

MANOELITO COELHO DOS SANTOS JÚNIOR¹
EDIMAR CAETITÊ JÚNIOR²
ANÍBAL DE FREITAS SANTOS JÚNIOR²

1. Farmacêutico-Clinico Industrial pela Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS.
2. Docentes do Departamento de Saúde, Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual de Feira de Santana, UEFS. Av. Universitária S/N CEP: 40031-460, Feira de Santana, BA.

Autor responsável: A.F. Santos-Júnior. E-mail: bal@uefs.br

INTRODUÇÃO

As formas farmacêuticas sólidas orais, após serem administradas no organismo humano, devem liberar seu princípio ativo através dos processos de desintegração e dissolução, caracterizando a fase farmacêutica de ação dos fármacos, tornando-o disponível, em quantidade suficiente, para ser absorvido (HANSON, 1991).

Administrado por via oral, na forma de comprimidos ou cápsulas, um fármaco não pode ser absorvido até que suas partículas sejam dissolvidas pelos líquidos em algum ponto do trato gastrointestinal (TGI), caso sua solubilidade seja dependente do pH do meio, ele pode se dissolver no estômago ou no intestino. O processo pelo qual as partículas se dissolvem é chamado de dissolução (ANSEL; POPOVICH; ALLEN JUNIOR, 2000).

Antes da dissolução do fármaco terá que ocorrer a desagregação do comprimido em pequenas partículas, ou grânulos, um processo conhecido como desintegração. Como a dissolução de um fármaco a partir de um comprimido fragmentado controla, parcialmente ou totalmente, a concentração de um fármaco no sangue, o teste de desintegração é usado como guia para otimização de uma fórmula e como controle de processo, assegurando a uniformidade entre lotes (BANKER; ANDERSON, 2001).

Para a desintegração ocorrer é necessário superar a força de coesão introduzida dentro da massa de compressão. Por essa razão, é bastante utilizada na indústria farmacêutica a introdução de agentes desintegrantes nas formulações, que são responsáveis em induzir esse processo. O termo desintegrante é usualmente empregado para descrever substâncias que ao serem adicionadas à fórmula promovem a fragmentação do comprimido quando este entra em contato com a água (meio reacional) (LÓPES-SOLÍS; VILLAFUERTE-ROBLES, 2001).

Nos últimos anos, a cinética de dissolução de substâncias sólidas tem merecido grande atenção, especialmen-

te por sua aplicação em estudos de produtos medicamentosos, relacionando este processo com a biodisponibilidade de fármacos no organismo animal e, sobretudo no ser humano (ANICETO; FATIBELLO-FILHO, 2002; CORRIGAN; DEVLIN; BUTLER, 2003; DIMITROVSKA; STOJANOSKI; DOREVSKI, 1995; FERRAZ; CONSIGLIERI; STORPIRITS, 1998; LIMA et al, 2003). O interesse deriva da necessidade de se conhecer quais os fatores que interferem no processo de dissolução, assim como a correlação dos resultados dessas experiências com parâmetros *in vivo*. A obtenção de elevado grau de correlação permite que a avaliação da dissolução *in vitro* seja adotada como ferramenta essencial no controle de qualidade de lotes sucessivos, podendo ser considerada como teste preditivo da biodisponibilidade dos medicamentos (CÁRCAMO, 1981).

Devido a alta complexidade e elevados custos dos estudos de biodisponibilidade e bioequivalência, a determinação do perfil de dissolução de fármacos a partir de suas formulações, adquiriu fundamental importância para avaliação dos produtos já comercializados e, no desenvolvimento de novos medicamentos (KING, 1975; FERREIRA et al, 1989; MARQUES; BROWN, 2002; LEGALIZA REGISTROS LTDA, 2002; KAMBA et al, 2003).

Inúmeros fatores, dentre os quais, o meio reacional (pH, temperatura, agitação, presença de adsorventes e tensão superficial), características do fármaco (estrutura química, solubilidade, área superficial, porosidade e polimorfismo) e fatores relacionados com a formulação (tecnologia de fabricação e excipientes) podem influenciar na cinética de dissolução dos medicamentos. Portanto, é relevante a investigação destas variáveis uma vez que podem interferir nos processos de desintegração e dissolução de formas farmacêuticas sólidas orais, prejudicando desta forma, o grau de absorção da droga e, conseqüentemente, sua eficácia terapêutica.

A escolha do medicamento para a avaliação de parâmetros físico-químicos na cinética de dissolução de compri-

midos foi feita levando-se em consideração a grande utilização deste medicamento pela sociedade. Os medicamentos antiinflamatórios, analgésicos e antipiréticos constituem um grupo heterogêneo de compostos que, em muitos casos, não estão relacionados quimicamente, embora a maioria deles sejam ácidos orgânicos, compartilham de algumas ações terapêuticas e efeitos colaterais (INSEL, 1996).

Os antiinflamatórios estão entre os agentes mais usados na terapêutica, dentre as principais classes de analgésicos, antipiréticos e antiinflamatórios destacam-se os derivados do p-aminofenol, dentre esses o paracetamol, também chamado de acetaminofeno (KOROLKOVAS; BURCKHALTER, 1982; CARVALHO, 2002). A investigação da cinética de dissolução de formas farmacêuticas sólidas contendo paracetamol é muito ampla, fato pode ser comprovado pelas pesquisas realizadas por Nagashima Jr. et al. (2002) e Lourenço; Tavares Neto (2002), que apontam os analgésicos não-opioides como o principal grupo farmacológico utilizado pela população e, entre os analgésicos mais consumidos, encontra-se o paracetamol (Figura 01). Outros trabalhos envolvendo este fármaco são descritos por Najib; Jalay (1988), Gar; Rubistein (1992), Hussain; York; Timmins (1992), Prasad (2002) e Santos Júnior; Caetano; Santos Júnior (2003).

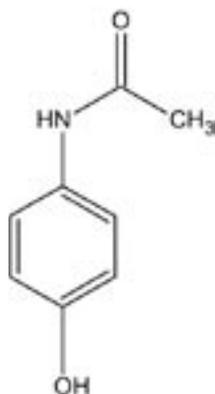


Figura 1.
Estrutura química
do Paracetamol.

O objetivo deste trabalho foi investigar como parâmetros físico-químicos (temperatura e tensão superficial) podem interferir sobre o tempo de desintegração de comprimidos de paracetamol produzidos por diferentes fabricantes.

MATERIAL E METÓDOS

Os comprimidos utilizados para a realização deste trabalho foram adquiridos nas drogarias localizadas no centro da cidade de Feira de Santana/Bahia/Brasil, no período de Janeiro a Março/2004. Para assegurar fidelidade nos resultados foram utilizados comprimidos de dois laboratórios diferentes, sendo 172 comprimidos de paracetamol 750mg de cada laboratório, 100 para os testes com a influência

da temperatura e 72 para os testes com a influência de agentes tensoativos. Os medicamentos foram identificados e denominados por letra romanas (I e II) sempre mantendo em sigilo o nome do fornecedor. Todos os testes foram realizados em triplicata.

Os parâmetros físicos, como peso médio, dimensão (diâmetro e comprimento) e friabilidade dos comprimidos de paracetamol foram determinados antes do teste de desintegração. Os procedimentos metodológicos empregados para a realização destes foram os mesmos descritos na Farmacopéia Brasileira (1988) e em *The United States Pharmacopeia The National Formulary* (2002). O comprimento e o diâmetro dos comprimidos foram determinados com o auxílio de um paquímetro calibrado, do modelo Calibre Mitutoyo. Para a realização do teste de friabilidade dos comprimidos de paracetamol foi empregado um friabilômetro, modelo Labprocess.

O teste de desintegração foi realizado com desintegrador Nova Ética modelo 301 AC que segue as especificações contidas nas Farmacopéias Brasileira e Americana (*The United Pharmacopeia The National Formulary*). O equipamento consiste num sistema de cesta e tubos, com um recipiente apropriado para o líquido de imersão (um béquer com capacidade de 1L), de um termostato para manter o controle da temperatura do líquido de imersão, de um mecanismo para movimentar verticalmente a cesta e os tubos no líquido de imersão, com frequência constante e percurso específico. O teste consiste em colocar um comprimido em cada um dos seis tubos da cesta e utilizar 900mL de água destilada a 37°C + 1°C como líquido de imersão, acionar o aparelho e observar o tempo necessário para que os comprimidos se desintegrem.

Para determinação da influência da temperatura sobre o tempo de desintegração foram analisados os seguintes valores de temperatura: 30°C, 35°C, 36°C, 37°C, 38°C, 39°C, 40°C e 50°C. Devido ao fato do termostato do desintegrador medir a temperatura externa e não a temperatura do meio reacional, todas as temperaturas do meio reacional foram determinadas com o auxílio de um termômetro.

Com o objetivo de se avaliar a influência de agentes tensoativos sobre o tempo de desintegração de comprimidos de paracetamol, utilizou-se emprego volumes de 1mL, 2,5mL e 5mL dos agentes tensoativos Tween 80 e Lauril Sulfato de Sódio. Os dados obtidos foram tabulados para, só então, ser efetuada a análise e interpretação técnico-científica dos resultados a fim de se correlacionar os parâmetros investigados com os resultados obtidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises foram realizadas utilizando-se amostras de comprimidos de paracetamol fabricados por dois laboratórios diferentes. Na Tabela 1, encontram-se as características de cada marca utilizada e os resultados obtidos nos testes de peso médio, friabilidade e tempo de desintegração.

Tabela 1. Características obtidas das amostras analisadas.

Características	Amostra I	Amostra II
Composição	Hidroximetilpropilcelulose, polietilenoglicol, crospovidona, dióxido de silício coloidal, estearato de magnésio	Amido pré-gelatinizado, povidona, ácido esteárico
Diâmetro	1,86cm	1,88cm
Espessura	0,71cm	0,81cm
Peso Médio	875mg	820mg
Friabilidade	0,06%	0,12%
Tempo de desintegração (37°C)	234seg	392seg

Fonte: Pesquisa Experimental.

Analisando os dados da Tabela 1, pôde-se observar que na composição da amostra I estão presentes a hidroximetilcelulose (utilizada para o revestimento de comprimidos) e a crospovidona, ambos utilizados com o intuito de facilitar a desintegração da estrutura organizada da forma farmacêutica sólida oral.

Na amostra II, o único excipiente que pode ser utilizado com o objetivo de facilitar a desintegração é a povidona, o amido pré-gelatinizado também pode ser usado como desintegrante, porém, nesta formulação não se pôde definir exatamente a sua função.

Observando os parâmetros físicos analisados – peso médio, friabilidade e tempo de desintegração – as amostras analisadas estão de acordo com as especificações das Farmacopéias Brasileira e Americana (*The United Pharmacopeia The National Formulary*), uma vez que nenhum comprimido ultrapassou 5% do peso médio; a friabilidade não foi superior a 1,5% e o tempo de desintegração foi inferior a 30 minutos. Portanto, são amostras que estão de acordo com estes parâmetros físicos de qualidade e segurança.

Na Tabela 2 estão os resultados encontrados para o teste da influência da temperatura sobre o tempo de desin-

tegração das amostras analisadas. Para cada valor de temperatura estabelecida encontra-se o respectivo tempo.

Observando os valores obtidos para os tempos de desintegração na faixa de temperatura de 36°C a 39°C, percebe-se que não há uma diferença significativa entre os tempos apresentados pelas amostras I e II (Tabela 2). O estudo nesta faixa é muito importante, pois a temperatura do corpo humano não é estática podendo variar de 36°C a 40°C (febre ou outro processo patológico). Neste sentido, é importante avaliar se o medicamento se desintegrará dentro do tempo determinado pela Farmacopéia Brasileira (30min), mesmo tendo uma variação de temperatura do meio reacional. Para avaliar de maneira mais aprofundada a influência da temperatura sobre o tempo de desintegração foi preciso estabelecer valores que estivessem abaixo e acima da temperatura normal do corpo humano, logo, utilizou-se valores entre 30°C e 50°C.

Para a amostra I, os valores de temperatura apresentados mostram tempos de desintegração muito próximos (Tabela 2). Observou-se que houve uma diminuição significativa no tempo de desintegração a partir de 36°C na amostra II, enquanto que para os outros valores de temperatura (até 40°C), os tempos de desintegração estão muito próxi-

Tabela 2. Tempo de desintegração das amostras I e II para os valores de temperatura de estudo.

Temperatura (°C)	Tempo Médio	
	Amostra I	Amostra II
30	5min 15s	14min 35s
35	4min 20s	9min 50s
36	4min 14s	8min 53s
37	4min 03s	6min 34s
38	4min 17s	6min 20s
39	4min 22s	6min 21s
40	4min 31s	6min 27s
50	3min 50s	4min

Fonte: Pesquisa Experimental

mos. Observando os dois extremos da temperatura pode-se observar uma grande diferença de tempo (Tabela 2), pois pode-se verificar que a medida que a temperatura aumenta, o tempo de desintegração das amostras tende a diminuir. Este fato pode ser explicado pela Lei de Le Chatelier, pois para qualquer alteração que tem um ΔH (variação de entalpia) positivo, um aumento da temperatura provocará um aumento da concentração dos produtos à custa da concentração do reagente. Logo, com esta conclusão pode-se prever a dependência entre a temperatura e a solubilidade.

A solubilidade do soluto aumenta com o aumento da temperatura. Se de outro lado a variação de entalpia for negativa, então a solubilidade do soluto diminui com o aumento da temperatura (MAHAN, 1991). Como a maioria dos sólidos apresenta calor de dissolução positivo, o aumento da temperatura favorece sua dissolução.

Para melhor visualização destes resultados, a tabela 2 foi convertida em um gráfico (Figura 2). Para a amostra II, verificou-se um tempo de desintegração maior do que para a amostra I para toda a faixa de temperatura estudada. Observando os excipientes de cada uma das amostras (Tabela 2), a composição da amostra I apresenta dois agentes desintegrantes, crospovidona e hidroximetilpropilcelulose, enquanto que na amostra II o único agente que pode desenvolver uma função de desintegrante é a povidona. Isto reforça a influência de fatores relacionados à tecnologia de fabricação, em que os excipientes desempenham papel relevante frente à cinética de dissolução de formas farmacêuticas sólidas orais.

A Tabela 3 mostra os resultados do teste para verificar a influência dos agentes tensoativos, Lauril Éter Sulfato de Sódio e Tween 80 (Polisorbato 80), sobre o tempo de desintegração das amostras analisadas. Utilizando o meio reacional descrito na Farmacopéia Brasileira (água destilada a 37°C + 1°C) as amostras I e II apresentaram um tempo de desintegração de 4min 03s e 6min 34s, respectivamente (Tabela 1).

Adicionando-se Lauril Éter Sulfato de Sódio ao meio reacional verificou-se que não ocorreram alterações significativas sobre o tempo de desintegração da amostra I (Tabela 3), mesmo aumentando-se a quantidade de tensoativo utilizado. Por outro lado, a amostra II mostrou um compor-

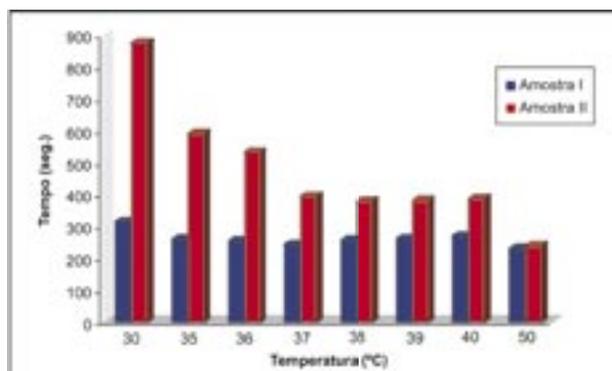


Figura 2. Gráfico comparativo entre os tempos de desintegração das amostras I e II.

tamento diferente quando se adicionou 1mL do tensoativo Lauril Éter Sulfato de Sódio: houve uma redução no tempo de desintegração de 6min 34s (Tabela 2) para 2min 35s (Tabela 3). O aumento do volume de tensoativo no meio reacional da amostra II não ocasionou diferença significativa no tempo de desintegração. Analisando os resultados frente ao uso do tensoativo Tween 80, percebe-se que ocorreu uma redução do tempo de desintegração para as duas amostras analisadas, sendo que na amostra II o decréscimo foi mais significativo (Tabela 3). A partir das análises realizadas com os agentes tensoativos, conclui-se que o Tween 80 interfere sobre o tempo de desintegração das amostras I e II, enquanto que o Lauril éter sulfato de sódio exerce influência apenas na amostra II.

Quando um sólido entra em contato com um líquido forma-se entre eles um ângulo de contato. A redução deste ângulo promove um aumento na “molhabilidade” da partícula sólida. Um agente tensoativo atua reduzindo a tensão superficial de um líquido, diminui o ângulo de contato entre este e o sólido, conseqüentemente, melhora a “molhabilidade” das partículas sólidas e, portanto reduz o tempo de desintegração de formas farmacêuticas sólidas orais, pois favorece um maior contato entre o comprimido e o líquido reacional. Além disso, a presença de desintegrantes pode favorecer ainda mais esse contato entre a partícula sólida e o líquido.

Tabela 3. Influência dos Tensoativos Tween 80 e Lauril Éter Sulfato de Sódio sobre o tempo de desintegração de comprimidos de paracetamol.

Volume do Agente Tensoativo (mL)	Tempo médio de desintegração (min)			
	Amostra I		Amostra II	
	Tween 80	Lauril Éter Sulfato de Sódio	Tween 80	Lauril Éter Sulfato de Sódio
1,0	3min	4min 18s	2min 30s	2min 35s
2,5	3min 20s	4min 10s	2min 40s	2min 24s
5,0	3min 20s	4min 35s	2min 20s	2min

Fonte: Pesquisa Experimental

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para o registro de um novo medicamento é preciso comprovar através de testes físico-químicos que a sua fórmula possua qualidade, segurança e eficácia para ser utilizada pela população. Dentre os testes físico-químicos que devem ser realizados encontra-se o perfil de dissolução, que, para as formas farmacêuticas sólidas, compreende o tempo de desintegração e o tempo de dissolução das partículas em um meio reacional. Nos últimos anos, esses dois parâmetros têm merecido especial destaque, pois podem ser influenciados não somente pela tecnologia de fabricação empregada, mas também pela natureza do fármaco e pela composição do meio reacional. Neste sentido, a questão central deste trabalho foi determinar de que forma parâmetros como a temperatura e agentes tensoativos podem influenciar sobre o tempo de desintegração de comprimidos de paracetamol.

A partir dos resultados obtidos foi possível concluir que a temperatura do meio reacional influencia, de forma significativa, o tempo de desintegração de comprimidos de paracetamol. A relação temperatura *versus* tempo de desintegração é inversamente proporcional, ou seja, quanto maior a temperatura do meio menor será o tempo de desintegração.

Os agentes tensoativos possuem uma propriedade de aumentar a "molhabilidade" das partículas facilitando, assim, o contato destas com os fluídos corpóreos, promovendo uma redução do tempo necessário para que ocorra a desagregação do comprimido. Esta ação dos tensoativos também pôde ser comprovada pelos experimentos realizados neste trabalho. Para comprimidos que apresentam dificuldade em desintegrar, pode-se utilizar como recurso farmacotécnico a adição de Lauril éter sulfato de sódio ou Tween 80, durante o processo de granulação, facilitará a desintegração destes comprimidos, pois os tensoativos podem agir como agentes desintegrantes e como foi comprovado neste trabalho esses dois tensoativos podem reduzir o tempo de desintegração.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANICETO, C.; FATIBELLO-FILHO, O. F. Determinação espectrofotométrica por injeção em fluxo de paracetamol (acetaminofeno) em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 2, p. 2-12, 2002.
2. ANSEL, H.C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JR., L. V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. Trad. Terezinha Oppidio. 6.ed. São Paulo: Premier; 2000.
3. BANKER, G.S.; ANDERSON, N. R. Comprimidos. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANING, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Trad. João F. Pinto et al. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v. 2, 2001, p. 509-597.
4. CÁRCAMO, E.D. Factores que influyen en la velocidad de disolución. In: _____. **Cinetica de disolución de medicamentos**. Santiago: Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos, 1981. p. 11-26.
5. CARVALHO, W.A. Analgésicos antipiréticos e antiinflamatórios. In: Silva, P. **Farmacologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002. 1374 p. p. 431-455.
6. CORRIGAN, O.I.; DEVLIN, I.; BUTLER, J. Influence of dissolution medium buffer composition on ketoprofen release from ER products and in vitro-in vivo correlation. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 254, p. 147-154, 2003.
7. DIMITROVSKA, A.; STOJANOSKI, K.; DOREVSKI, K. Kinetics of degradation of cefaclor: I. Effects of temperature, phosphate buffer, pH and copper (II) ion on the rate of degradation. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 115, p. 175-182, 1995.
8. FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4ed. São Paulo: Atheneu, 1988, parte I.
9. FERRAZ, H.G.; CONSIGLIERI, V. O.; STORPIRTIS, S. Avaliação da cinética de dissolução de ampicilina em comprimidos comercializados no Brasil. **Revista Farmacêutica de Bioquímica**, São Paulo, v. 34, n. 2, p. 93-99, 1998.
10. FERREIRA, M. C. S. et al. Utilização do amido de mandioca na indústria farmacêutica: comprimidos de ácido acetilsalicílico. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 70, n. 3, p. 77-79, 1989.
11. GAR, J. S. M.; RUBINSTEIN, M. H. The influence of moisture content on the consolidation and compaction properties of paracetamol. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 81, p. 187-192, 1992.
12. HANSON, W. A. Overall Considerations. In: _____. **Handbook of dissolution testing**. 2. ed. Oregon: Aster Publishing Corporation, 1991a, 159p., p. 1-12.
13. HUSSAIN, M. S. H.; YORK, P.; TIMMINS, P. Effect of commercial and high purity magnesium stearates on in-vitro dissolution of paracetamol DC tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 78, p. 203-207, 1992.
14. INSEL, P. A.; Fármacos analgésicos, antipiréticos e antiinflamatórios e medicamentos usados no tratamento da gota. In: HARDMAN, J. E.; LIMBRID, L. E. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 9ed. McGrawhill. 1996, p. 451-480.
15. KAMBA, M. *et al.* Measurement of agitation force in dissolution teste and mechanical destructive force in desintegracion test. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 250, p. 99-109, 2003.
16. KING, R. E. Pharmaceutical preparations and their manufacture. n: OSLOL, A.; HOOVER, J. E. **Remington's Pharmaceutical Sciences**. 55. ed. Pennsylvania: Mack Publishing Company, 1975, 1960p. p. 1355-1666.
17. KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J.H. Analgésicos. In: _____. **Química farmacêutica**, Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1982, p. 159-197.

18. LEGALIZA REGISTROS LTDA. **Guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas orais**. Disponível em: <http://www.legalizaregistros.com.br/proposta/Ensaio_Dis.htm>. Acesso em: 30 jul. 2002.
19. LIMA et al. Efeito da força de compressão e da umidade no perfil de dissolução de uma formulação de comprimidos contendo hidroclorotiazida. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 55., Recife, 2003. **CD-Rom**. Recife: Sonopress, 2003.
20. LÓPEZ-SOLÍS, J.; VILLAFUERTE-ROBLES, L. Effect of desintegrants with different hygroscopicity on dissolution of norfloxacin/paracetamol DCL 11 tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 216, p. 127-135, 2001.
21. LOURENÇO, A.M.; TAVARES NETO, J. Estudo do perfil da autome-dicação em uma comunidade rural da Bahia. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 54., Goiânia, 2002. **CD-Rom**. Goiânia: Sonopress, 2002.
22. MAHAN, B. H. **Mahan**: Química um curso universitário. 2. ed. São Paulo: Edgard Blücher Ltda., 1991.
23. MARQUES, M.R.C.; BROWN, W. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. **Revista Analytica**, n. 1, p. 48-51, 2002.
24. NAGASHIMA JR., T. et al. Avaliação do grupo farmacológico dos medicamentos adquiridos nas farmácias e drogarias da cidade de natal, visando a implantação de programas de assistência farmacêutica no município. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 54., Goiânia, 2002. **CD-Rom**. Goiânia: Sonopress, 2002.
25. NAJIB, N.; JALAL, I. Correlation between dissolution and disintegration rate constants for acetaminophen tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, n. 44, p. 43-47, 1988.
26. PRASAD, K.V.R. et al. Dissolution kinetics of paracetamol single crystals. **International Journal of Pharmaceutics**. n. 238, p. 29-41, 2002.
- RANG; H.P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. Fármacos analgésicos. In: _____. **Farmacologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. p. 485-504.
27. SANTOS JR., M. C.; CAETANO, L. P.; SANTOS JR., A. F. Influência da Temperatura no tempo de desintegração de comprimidos de paracetamol. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 55. Recife, 2003. **CD-Rom**. Recife: Sonopress, 2003.
28. UNITED STATE PHARMACOPEIA 25th ed. Rockville: The United States Pharmacopeia Convention, Inc. 2002.

ASSOCIAÇÃO DE ÉSTERES EMOLIENTES À AVOBENZONA

DANIELA FERREIRA ANGELO¹
NÁDIA CAROLINA GARCIA BELLO¹
MÁRCIO FERRARI²

1. Acadêmicas do Curso de Farmácia da Universidade de Cuiabá, UNIC.
2. Farmacêutico, Doutor em Ciências Farmacêuticas,, responsável pelo Laboratório P&D de Produtos Cosméticos da Faculdade de Farmácia da Universidade de Cuiabá, UNIC. Av. Beira Rio, 3100, Jardim Europa. 78015-480. Cuiabá-MT.

Autor responsável: M. Ferrari. E-mail: ferrarimarcio@uol.com.br

INTRODUÇÃO

A exposição da pele humana à luz ultravioleta leva a queimadura, a maior risco de câncer de pele e também ao envelhecimento precoce da mesma (OSTERWALD & HERZOG, 2005). O conhecimento destes danos bem como a consciência da importância do uso de filtro solar, em especial em um país tropical como o Brasil, aumenta a cada dia (STEINER, 2005).

Tendo em vista que estes danos podem ser prevenidos através da proteção contra radiações ultravioleta (UV) (MONGIAT et al., 2003), é que as formulações de protetores solares estão sujeitas, constantemente, a um conjunto de fatores cada vez mais rigorosos provindos da expectativa de

uma melhor eficácia por parte dos consumidores, da necessidade de maior segurança de uso, de requisitos legais cada vez mais estreitos, de maiores restrições comerciais e de maior estabilidade dos sistemas (JOHNCOCK, 2000).

Os anti-solares é uma classe de produtos de cuidados especiais, que contêm ingredientes ativos que podem absorver ou refletir radiação ultravioleta para defender a pele dos efeitos danosos do sol (SCHUELER & ROMANOSWSKI, 2000). Assim, a escolha certa de filtros UV é uma das decisões mais cruciais de um formulador. Além disso, a escolha dos demais componentes da formulação, dentre eles os emolientes, também pode interferir na eficácia e estabilidade de um filtro solar (WÜNSCH, 2001).

Segundo Rodrigues e Barry (2001) os emolientes apresentam as seguintes funções: repor os óleos naturais da pele; proporcionar efeito de espalhabilidade e oclusividade; influenciar na maciez, aparência e suavidade da pele; proporcionar efeito de retenção de umidade em combinação com produtos adequados; agir como solubilizante e solvente, além de interferir na consistência e aparência da formulação.

Além das várias funções dos emolientes, muitas vezes são utilizados em associações entre si, com o objetivo de melhorar aspectos táteis e sensoriais das formulações (KLEIN, 2005).

Freqüentemente os óleos vegetais são utilizados em formulações cosméticas devido suas propriedades emolientes (AKO et al., 2005; HARRY-O'KURU et al., 2005). São utilizados em formulações para tratamento de doenças como psoríases (FELDMAN, 2005) e também para aumentar a função de barreira da pele prevenindo infecções e complicações neonatal (DARMSTADT et al., 2005).

Portanto, a escolha do emoliente é de importância primordial e o formulador deve considerar se a composição do emoliente selecionado é compatível com a aplicação.

Existem diversos tipos de emolientes que se diferenciam por serem polares ou não polares, saturados ou não, diferentes pesos moleculares, cadeias ramificadas ou lineares e extensão das mesmas. Todas estas características influenciam nas propriedades sensoriais dos mesmos, quer pelo seu mecanismo, quer pela interação com a pele (KAMERSHWARL & MISTRY, 2001).

De acordo com Dahms (1994) os emolientes apresentam ações diretas na eficácia de um produto que contém filtro solar. Podem influenciar drasticamente na espalhabilidade do produto, interferindo na formação do filme homogêneo e distribuição sobre a pele; na fixação dos filtros solares na pele e também é possível que a interação com os emolientes possa acelerar a instabilidade de alguns filtros solares.

Os emolientes ainda podem mudar o comprimento de onda nos quais os filtros orgânicos exibem absorção máxima (λ máx.). O solvente utilizado ou mesmo quaisquer dos componentes como os emolientes utilizados na formulação, podem interagir quimicamente com o filtro solar degradando-o ou modificando o comprimento de onda de absorção máxima, deslocando-a para outro valor maior (efeito batocrômico) ou para menor (efeito hipsocrômico), o que pode comprometer o Fator de Proteção Solar (FPS) da formulação (RODRIGUES & SALK, 2001; SHAATH, 1987).

A escolha dos emulsificantes depende, dentre outros fatores, dos emolientes utilizados na formulação. Estes também podem afetar o espectro de absorção dos filtros solares (CASWELL, 2001).

Os ésteres emolientes são freqüentemente utilizados na composição de produtos contendo filtros solares devido suas excelentes propriedades solubilizantes, em especial quando utilizados filtros solares sólidos como a benzofenona 3 e a avobenzona, evitando assim a recristalização dos mesmos (JOHNSON, 2000; TOSKIC-RADOJICIC et al., 2004).

A avobenzona é um filtro solar muito utilizado com espectro de absorção característico na região ultravioleta A (UVA). É permitido pela legislação brasileira RDC 47 de 16/03/2006 (BRASIL, 2006) a uma concentração máxima de 5%. De acordo com Steinberg (2004) é o oitavo filtro solar mais freqüentemente utilizado em produtos nos Estados Unidos.

Apresenta significativa atuação na faixa de 320 a 400nm e suficiente magnitude para atenuar mais de 90% da radiação UVA (BONDA & STEINBERG, 2000). Os mesmos autores relataram que o espectro de absorção na região UVB da avobenzona também é considerável, pois em 306 nm absorve duas vezes mais que o salicilato de etilhexila.

Um outro problema relacionado à eficácia do produto contendo filtro solar está na instabilidade fotoquímica do mesmo. Esta foto decomposição dos filtros UV pode promover a formação de radicais e intermediários reativos, nos quais podem estar direta ou indiretamente relacionados com danos na pele (DAMIANI et al., 2006; KULLAVANIJAYA & LIM, 2005). Damiani et al. (2006) alertaram para a utilização da avobenzona associada ou não com outros filtros solares, no que diz respeito à foto instabilidade.

Apesar da sua foto instabilidade, a avobenzona não apresentou resultados positivos quando estudada quanto a estrogenicidade (MOROHOSHI et al., 2005; SUZUKI et al., 2005; SEIDLOVÁ-WUTTKE et al., 2006).

Fundamentados no exposto, o objetivo desta pesquisa foi de avaliar a interferência de ésteres emolientes na absorção máxima (efeito batocrômico e hipsocrômico) da avobenzona.

MATERIAIS E MÉTODOS

O filtro solar escolhido foi o Butyl Methoxy Dibenzoyl Methane, conhecido como Avobenzona (Eusolex 9020 – Merck) com absorção na região UVA. Como solvente foi utilizado o Álcool etílico absoluto (Merck).

Os ésteres emolientes estudados foram: Caprylic/Capric Triglyceride (Triglicérido caprílico/cáprico – Crodamol GTCC – Croda do Brasil), Cetearyl Isononanoate (Isononanoato de cetearila – Cetiol SN – Cognis do Brasil), Coco-Caprylate/Caprato (Caprilato/caprato de côco – Cetiol LC – Cognis do Brasil), Dicaprylyl Carbonate (Carbonato dicaprílico – Cetiol CC – Cognis do Brasil), Isopropyl Palmitate (Palmitato de Isopropila – Crodamol IPP – Cognis do Brasil), Octyl Stearate (Esterato de Octila – Cetiol 868 – Cognis do Brasil), Isopropyl Miristate (Miristato de Isopropila – Crodamol IPM – Croda do Brasil).

Determinação da absorvância máxima do filtro solar

Para determinação da absorvância máxima (λ máx.) o filtro solar pesado em balança analítica (Bioprecisa, Modelo FA-2104N), foi diluído em álcool etílico absoluto PA

(10µg/mL p/v) e realizada varredura entre os comprimentos de onda de 200 a 400nm (FEMTO, modelo 800XI, em cubeta de quartzo de 1,0 cm caminho óptico). Foi utilizado o álcool etílico absoluto PA como branco. Com o objetivo de verificar se o solvente absorvia na região de estudo, o álcool etílico absoluto foi submetido às mesmas condições experimentais, sendo a água destilada utilizada como branco. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Estudo da solubilidade e determinação da absorvância máxima dos emolientes

Todos os emolientes em estudo foram testados frente à solubilidade ao álcool etílico absoluto PA em uma concentração de 5% (p/v). Os emolientes solúveis no solvente foram submetidos à metodologia descrita acima com o objetivo de verificar se os mesmos não absorviam na região UVA e B. O experimento foi realizado em triplicata.

Determinação da interferência dos emolientes na absorvância máxima do filtro solar

Foi preparada uma solução de álcool etílico absoluto PA com avobenzona (10µg/mL p/v) associada ao emoliente em estudo (5% p/v). Esta solução foi submetida à varredura entre os comprimentos de onda de 200 a 400 nm (FEMTO, modelo 800XI, em cubeta de quartzo de 1,0 cm caminho óptico) utilizando o álcool etílico absoluto PA como branco. O experimento foi realizado em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O estudo iniciou-se pela determinação da absorvância máxima (λ máx.) da avobenzona através da varredura no espectrofotômetro UV/VIS nos comprimentos de onda de 200 a 400 nm.

A figura 01 demonstra o perfil de absorção da avobenzona diluído em álcool etílico (10µg/mL p/v), configurando a absorção máxima da mesma em 347nm, caracterizando-a como filtro solar químico UVA.

Para confirmar que o pico apresentado é do filtro solar, realizou-se o mesmo procedimento utilizando apenas o solvente. Verifica-se (figura 01) que o solvente não interferiu na absorvância da avobenzona, confirmando que o pico apresentado é realmente do filtro solar em estudo.

De acordo com a literatura (MERCK, 2006) quando diluída em álcool isopropílico a λ máx. da avobenzona foi em 358 nm. O mesmo comprimento de ondas foi apresentado por Bonda e Steinberg (2000). Kullavanijaya e Lim (2005) relataram o pico máximo deste filtro solar em 360 nm.

Esta variação em relação aos resultados obtidos pode ser devido ao equipamento utilizado, ao grau de pureza do solvente e do filtro solar utilizados, natureza química do solvente e/ou erros sistemáticos de técnica. Sendo assim, será considerado para as análises posteriores o λ máx. em 347nm.

Tabela 1. Absorvância máxima da solução alcoólica da avobenzona (10µg/mL p/v) e das soluções da avobenzona com os emolientes a 5% (p/v).

Solução alcoólica em estudo	Absorvância máxima (λ máx.)
Avobenzona	347nm
Avobenzona + Caprilato/caprato de côco	347nm
Avobenzona + Carbonato dicaprílico	347nm
Avobenzona + Estearato de Octila	346nm
Avobenzona + Isononanoato de cetearila	346nm
Avobenzona + Miristato de Isopropila	347nm
Avobenzona + Palmitato de Isopropila	347nm
Avobenzona + Triglicerídeo caprílico/cáprico	346nm

Os emolientes foram selecionados para o estudo visto que os mesmos são indicados pelos fornecedores para formulações contendo filtros solares e também por estarem presentes em diversas formulações, tanto do comércio quanto em formulários de farmácias de manipulação.

O critério de inclusão para o estudo foi a sua solubilidade no álcool etílico absoluto e também os mesmos não poderiam absorver a radiação ultravioleta na região em estudo.

O estudo de solubilidade foi realizado na concentração de 5% (p/v) de emoliente no solvente, visto que é uma quantidade pertinente e usualmente utilizada em formulações. Todos os emolientes apresentaram-se solúveis.

As soluções de emolientes em álcool etílico foram submetidas à varredura nos comprimentos de ondas entre 200 a 400nm, com o objetivo de verificar se os mesmos não absorviam na região UVA e B. Nenhuma absorção considerável foi encontrada.

Para o estudo da interferência dos emolientes na avobenzona, foi realizada uma varredura no espectrofotômetro nos comprimentos de ondas de 200 a 400nm com uma solução alcoólica de avobenzona (10µg/mL p/v) e 5% (p/v) dos diferentes emolientes separadamente (Tabela 01).

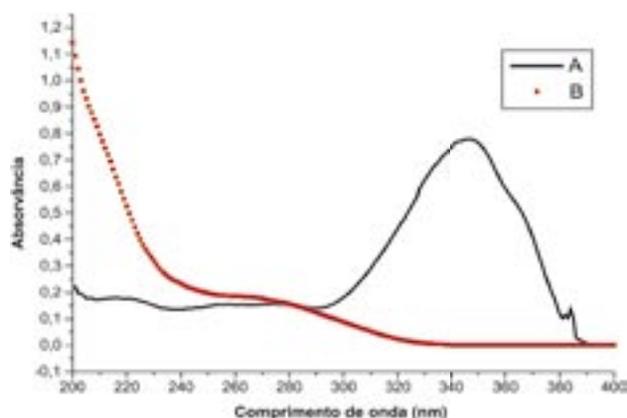


Figura 1. Espectro da varredura UV (200 a 400nm) (A) Absorvância máxima da solução alcoólica de Avobenzona (10µg/mL p/v); (B) Absorvância máxima do álcool etílico absoluto.

Ao verificar a tabela 1, observa-se que apenas os emolientes estearato de octila, isononanoato de cetearila e o triglicérideo caprílico/cáprico, apresentaram um deslocamento da absorção máxima da avobenzona para um comprimento de onda menor (346nm), representando um discreto efeito hipsocrômico.

De acordo com Aggrapidis-Paloympis et al. (1987) apud Rodrigues e Salka (2001) entre os emolientes polares e não-polares estes últimos exercem maior interferência na absorção máxima dos filtros solares, podendo provocar um deslocamento de comprimento de onda de absorvância máxima até mesmo fora da faixa de absorção do mesmo. Este efeito é diminuído com o aumento da polaridade dos emolientes.

Rodrigues e Salka (2001) estudaram a interferência do estearato de octila e do triglicérideo caprílico/cáprico sobre a benzofenona 3 e os mesmos promoveram o efeito batocrômico. Estes emolientes sobre o metoxicinamato de etilhexila resultaram no efeito hipsocrômico. Quando comparados com os resultados desta pesquisa, sugere-se que a interferência dos emolientes é dependente da natureza e interação química entre estes e os filtros solares.

Esta pesquisa é de grande importância para um alerta no uso de emolientes em formulações contendo filtros solares. Evidentemente que em uma formulação outros fatores como o processo de produção, a interação e sinergismo entre os filtros solares, a escolha dos emulsificantes, devem ser avaliados e considerados.

Estudos futuros serão realizados com o intuito de verificar se estes emolientes interferem na eficácia do produto acabado, pois deve ser destacado que os emolientes podem apresentar um efeito tanto no aumento ou diminuição do FPS.

CONCLUSÕES

Nas condições padronizadas nesta pesquisa, concluiu-se que os emolientes em estudo não apresentaram efeitos consideráveis no deslocamento do comprimento de absorção máxima da avobenzona, com exceção dos emolientes, estearato de octila, isononanoato de cetearila e o triglicérideo caprílico/cáprico, que apresentaram um discreto efeito hipsocrômico, mas que deve ser analisado em estudos futuros a interferência destes na eficácia final do produto.

AGRADECIMENTOS

A Faculdade de Farmácia da Universidade de Cuiabá (UNIC) e a Fundação de Amparo a Pesquisa de Mato Grosso (FAPEMAT) pelo apoio financeiro. A Croda do Brasil e a Cognis do Brasil pela doação das matérias-primas.

REFERÊNCIAS

- AKO, H.; KONG, N.; BROWN, A. Fatty acid profiles of kukui nut oils over time and from different sources. *Industrial crops and products*, v.22, p. 169-174, 2005.
- BONDA, C.; STEINBERG, D. C. A new photostabilizer for full spectrum sunscreens. *Cosmet. Toiletries*, v. 115, n. 3, p. 37-45, 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 47, de 16 de março de 2006. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 17 de março de 2006.
- CASWELL, M. Sunscreen formulation and testing. *Cosmet. Toiletries*, v.116, n.9, p.49-60, 2001.
- DAHMS, G.H. Coosing emollients and emulsifiers for sunscreen products. *Cosmet. Toiletries*, v.109, n.11, p. 45-52, 1994.
- DAMIANI, E. et al. Changes in ultraviolet absorbance and hence in protective efficacy against lipid peroxidation of organic sunscreens after UVA irradiation. *J. Photochem. Photobiol. B*, v.82, p. 204-213, 2006.
- DARMSTADT, G. et al. *Effect of topical treatment with skin barrier-enhancing emollients on nosocomial infections in preterm infants in Bangladesh: a randomized controlled trial.* *Lancet*, v.365, p.1039-1045, 2005.
- FELDMAN, S. Relative efficacy and interchangeability of various cloetasol propionate vehicles in the management of steroid-responsive dermatoses. *Curr. Ther. Res.*, v.66, n.3, 2005.
- HARRY-O'KURU, R.E.; MOHAMED, A.; ABBOTT, T.P. Synthesis and characterization of tetrahydroxyjojoba wax and ferulates of jojoba oil. *Industrial crops and products*, v.22, p.125-133, 2005.
- JOHNSON, W. Interação de Formulações com Filtro Solar. *Cosmet. Toiletries* (ed. Port.), São Paulo, v. 12, p. 40-50, 2000.
- KAMERSHWARL, V.; MISTRY, N. D. Propriedades Sensoriais dos Emolientes. *Cosmet. Toiletries* (ed. Port.), São Paulo, v.13, n. 3, p.52-59, 2001.
- KLEIN K. formulando Emulsões cosméticas: Um guia para principiantes. *Cosmet. Toiletries* (Ed. Port.), São Paulo, v. 17, n. 1, p.68 - 69, 2005.
- KULLAVANIJAYA, P.; LIM, H.W. Photoprotection. *J. Am. Acad. Dermatol.*, v. 52, p. 937-958, 2005.
- MERCK. Disponível em <<http://pb.merck.de/servlet/PB/menu/1254640/index.html>>. Acesso em: 10 jun. 2006.
- MONGIAT, S. et al. Um eficiente absorvedor UV de amplo espectro. *Cosmet. Toiletries* (ed. Port.), São Paulo, v. 15, n. 4, p. 62-67, 2003.
- MOROHOSHI, K. et al. Estrogenic activity of 37 components of commercial sunscreen lotions evaluated by in vitro assays. *Toxicol. in vitro*, v.19, p. 457-469, 2005.
- OSTERWALD V.; HERZOG B. Projetando absorvedores UV de amplo espectro. *Cosmet. Toiletries* (ed. Port.), v. 17, n. 6, p. 62-67, 2005.
- RODRIGUES, P.C.; SALKA, B.A. Seleção de emolientes. *Cosmet. Toiletries*, (ed. Port.), São Paulo, v.13, n.3, p.64-69, 2001.

SCHUELLER, R.; ROMANOWSKI, P. Introdução aos produtos fotoprotetores. *Cosmet. Toiletries* (ed. Port.), v. 12, n. 4, p. 60-67, 2000.

SEIDLOVÁ-WUTTKE, D. et al. Comparison of effects of estradiol (E2) with those of octylmethoxycinnamate (OMC) and 4-methylbenzylidene camphor (4MBC) – 2 filters of UV light – on several uterine, vaginal and bone parameters. *Toxicol. applied pharmacol.*, v.210, p.246-254, 2006.

SHAATH, N.A. On the theory of ultraviolet absorption by sunscreen chemicals. *J. Soc. Cosm. Chem.*, p.193-207, 1987.

STEINBERG, D. Frequência de uso de filtros UV orgânicos. *Cosmet. Toiletries* (ed. Port.), São Paulo, v.16, n.4, 2004.

STEINER, D. *Filtros solares: o que há de novo?* *Cosmet. & Toiletries* (ed. Port.), v. 17, n.6, p. 34, 2005.

SUZUKI, T. et al. Estrogenic and antiandrogenic activities of 17 benzophenone derivatives used as UV stabilizers and sunscreens. *Toxicol. applied pharmacol.*, v.203, p.9-17, 2005.

TOSKIC-RADOJICIC, M. D. et al. Recrystallization in different sunscreen formulations after cutaneous application. *J. Cosm. Dermatol.*, v.3, p.126-130, 2004.

WÜNSCH, T. Efeitos sinérgicos com filtros UV de alto desempenho. *Cosm. Toiletries* (ed. Port.), v.13, n. 1, p. 54-57, 2001.

SUSCETIBILIDADE ANTIMICROBIANA DE ENTEROBACTÉRIAS ISOLADAS DE INFECÇÕES DO TRATO URINÁRIO DE PACIENTES DE HOSPITAL DE BELÉM (PA)

JOSÉ MARIA DOS SANTOS VIEIRA¹
EDNEI CHARLES DA CRUZ AMADOR²
FELIPE PINTO DE OLIVEIRA³
MARIA APARECIDA DE ABREU NETTO³
ANTONIA BENEDITA RODRIGUES VIEIRA⁴

1. Professor Adjunto, Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Pará, UFPA, Av. Augusto Corrêa, 1, 66075-900, Belém-PA.
2. Discentes do Curso de Farmácia da UFPA.
3. Farmacêutica, Hospital Adventista de Belém.
4. Professor Adjunto, Departamento de Patologia, CB, UFPA.

Autor Responsável: J.M.S.Vieira. E-mail: jmvieira@ufpa.br

INTRODUÇÃO

Infecção do trato urinário (ITU) é a presença de microorganismos que se multiplicam, nas vias urinárias, constituídas pelos rins, ureteres, bexiga e uretra⁸. É uma das doenças mais comuns e acomete homens e mulheres, em qualquer idade, apresentando, entretanto, frequência diferenciada nos sexos feminino e masculino e nas diversas faixas etária¹.

A ITU representa o principal tipo de infecção hospitalar e é uma das principais causas de consulta na prática médica, com cerca de 40% dos processos infecciosos nosocomiais, só perdendo para as infecções do trato respiratório¹². A grande maioria das ITU é causada por bactérias, mas também podem ser provocadas por vírus, fungos e outros microorganismos¹³.

A etiologia das ITU tem sido analisada e estabelecida de forma razoavelmente consistente. A bactéria *Escherichia*

coli permanece o uropatógeno predominantemente isolado em comunidades com casos de infecções agudas sem complicações. *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Proteus*, sem muita frequência causam cistite e pielonefrite sem complicações^{4,1}.

Cerca de 10% a 20% das mulheres contrai ITU, em alguma época da sua vida, e um número significativo apresenta recidivas⁷. Em crianças, é freqüente e, ao atingir os rins, pode deixar seqüelas, denominada cicatriz renal. Quando ocorre infecção nos rins, pode haver cicatrização com tecido normal ou com tecido de fibrose, ficando aquele local sem a função de filtração. E, depois de repetidas infecções, o tecido renal vai sendo lentamente substituído, e os rins podem evoluir para falência da função, podendo a criança necessitar então de diálise⁵.

O uso de antibióticos induz a uma pressão seletiva sobre as cepas bacterianas, favorecendo a preservação das cepas que sofrem mutação genética para a resistência em

relação às cepas sensíveis. A disseminação desses agentes ocorre, particularmente, quando as medidas básicas no controle das infecções não são respeitadas⁹.

No presente trabalho, foi realizado um estudo da prevalência das enterobactérias isoladas de ITU em pacientes do Hospital Adventista de Belém, bem como o perfil de suscetibilidade, destas bactérias, frente aos antibióticos, visando a obtenção de dados que possam auxiliar o controle desta infecção e minimizar o uso abusivo de antibióticos.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de urina foram colhidas, após assepsia do trato genito-urinário e semeadas em meio MacConkey e incubadas a 37°C por 24 horas. Após o crescimento bacteriano, foram preparadas suspensões homogêneas de colônias isoladas, com volume de 1,5 mL ou 2,5 mL para serem identificadas quanto à espécie.

A identificação da espécie bacteriana e o antibiograma foram realizados no aparelho ATB EXPRESSION (BIOMÉ-

RIEUX), um sistema automático de identificação bacteriana e de teste de suscetibilidade a antimicrobianos. Foram testados os seguintes antibióticos: Amoxicilina (AMO); Amoxicilina com Ácido Clavulânico (AMC); Cefalotina (CFT); Ceftriaxona (CRO); Cefoxitina (CXT); Ceftazidima (CA1); Cefotaxima (CTX); Ceftazidima (CAZ); Piperacilina (PIC); Imipenema (IMI); Ácido Nalidíxico (NAL); Norfloxacin (NOR); Ciprofloxacina (CIP); Tobramicina (TOB); Amicacina (AKN); Gentamicina (GEN); Netilmicina (NET); Trimetoprim Sulfa (TSU); Nitrofurantoína (FUR); Fosfomicina (FOS).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho, foram analisadas 85 amostras urinárias de pacientes com indicação de ITU, atendidas no Hospital Adventista de Belém-PA. Destes pacientes 70,6% foram ambulatoriais e 29,4% hospitalizados (Tabela 1). De acordo com a etiologia *E. coli* foi a enterobactéria de maior prevalência provocando ITU nos dois tipos de pacientes, seguido de *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* e *E. cloacae*. De fato,

Tabela 1. Enterobactérias isoladas da urina de pacientes com ITU, ambulatoriais e hospitalizados, no Hospital Adventista de Belém, no ano de 2002.

BACTÉRIA ISOLADA	Ambulatoriais		Hospitalizados		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Escherichia coli</i>	43	50,6	20	23,5	62	74,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	06	7,1	03	3,5	10	10,6
<i>Proteus mirabilis</i>	04	4,7	01	1,2	06	5,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	01	1,2	01	1,2	02	2,4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	02	2,4	0	0	02	2,4
<i>Klebsiella terrigena</i>	01	1,2	0	0	01	1,2
<i>Proteus vulgaris</i>	01	1,2	0	0	01	1,2
<i>Morganella morganii</i>	01	1,2	0	0	01	1,2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	1,2	0	0	01	1,2
TOTAL	60	70,6	25	29,4	85	100,0

Tabela 2. Enterobactérias isoladas da urina de pacientes com ITU, de acordo com o sexo, no Hospital Adventista de Belém, no ano de 2002.

BACTÉRIA ISOLADA	Feminino		Masculino		TOTAL	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Escherichia coli</i>	55	64,7	08	15,1	63	74,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	08	9,4	01	2,3	09	10,6
<i>Proteus mirabilis</i>	04	4,7	01	1,2	05	5,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	02	2,3	02	2,4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	01	1,2	01	1,2	02	2,4
<i>Klebsiella terrigena</i>	0	0	01	1,2	01	1,2
<i>Proteus vulgaris</i>	01	1,2	0	0	01	1,2
<i>Morganella morganii</i>	0	0	01	1,2	01	1,2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	1,2	0	0	01	1,2
TOTAL	70	82,4	15	17,6	85	100,0

as bactérias gram-negativas do trato normal do intestino são as que mais provocam ITU e entre estas a *E. coli* é citada como predominante, na maioria dos trabalhos que relata ITU tanto em infecções com cepas da comunidade como do ambiente hospitalar^{3,11}.

Espécies bacterianas de *E. aerogenes*, *K. terrigena*, *K. oxytoca*, *P. vulgaris* e *M. morgani*, estiveram presentes apenas nos pacientes ambulatoriais. Entretanto, os pacientes hospitalizados examinados foram em menor número, o que dificulta fazer uma análise deste achado.

A maioria dos pacientes com ITU foi do sexo feminino (82,4% dos pacientes), enquanto que apenas 17,6% foram do sexo masculino (Tabela 2 na página anterior). As infecções urinárias são mais freqüentes em mulheres, pelo motivo destas terem uma uretra curta e facilmente atingível pelas bactérias da região perianal, sendo menos eficazes em deter a infecção^{2,7}.

E. coli também foi a bactéria mais prevalente tanto no sexo feminino como no masculino (Tabela 2). *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, e *E. aerogenes* foram encontradas nos dois sexos. *P. Vulgaris* e *K. oxytoca* apareceram somente em mulheres, por outro lado, *E. cloacae*, *K. terrigena* e *M. morgani* apenas nos homens. Estes dados mostram que as infecções urinárias provocadas por bactérias Gram-negativas, não obedecem a um mesmo padrão nos dois sexos.

De acordo com a Tabela 3 os pacientes mais acometidos com ITU eram idosos e adultos. Entre os idosos foi encontrado um maior número de espécies bacterianas, ou seja, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *E. cloacae*, *E. aerogenes* e *K. oxytoca*. Vários autores citam que pacientes idosos podem apresentar uma etiologia bacteriana bastante variada, principalmente os hospitalizados^{4,7,8,13}.

No presente trabalho, as crianças apresentaram a menor freqüência de ITU. Entretanto, esta infecção é freqüente nesta faixa de idade, com a apresentação variando de bacteriúria assintomática a pielonefrite aguda, que repre-

senta potencial risco de bacteremia e instalações de lesões renais irreversíveis⁴.

Os resultados obtidos nos antibiogramas (Figura 1) mostram que as cepas bacterianas estudadas revelaram uma alta sensibilidade (acima de 70%) a vários antibióticos Imipenema, Amicacina, Netilmicina, Ceftazidima, Cefotaxima, Tobramicina, Gentamicina, Norfloxacino, Fosfomicina e Ciprofloxacino. Entre os antibióticos testados, o Imipenema, um carbapenem β -lactâmico que evita as β -lactamases foi o antibiótico que revelou o melhor índice de sensibilidade (98,8%). Esta classe de antibiótico é um bactericida, notável pelo seu amplo espectro de atividade, agindo pela inibição da síntese da parede celular e representa uma outra modificação da estrutura do β -lactâmico¹². Vários autores demonstraram que a combinação do imipenema com a cilastatina de sódio previne a degradação desta combinação nos rins, com atividade contra 98% dos organismos isolados a partir de pacientes hospitalizados⁸.

Apenas uma cepa de *E. coli* foi resistente ao imipenema. Segundo alguns autores^{12,13}, esta bactéria adquire resistência com grande facilidade, sendo bastante elevado o número de infecções de cepas resistentes a um variado número de antibióticos. Reforçando este fato, as cepas de *E. coli* apresentaram as maiores taxas de resistências aos antibióticos testados quando comparadas com as outras espécies isoladas (Figura 1). Em vista disso, é recomendável a realização do antibiograma para a escolha do tratamento.

A amoxicilina, um β -lactâmico, foi o antibiótico frente ao qual todas as cepas testadas apresentaram maior índice de resistência. É conveniente ressaltar que a cepa de *K. xyloca* testada, apresentou resistência apenas para este antibiótico, sendo sensível a todos os outros antibióticos testados (Figura 1). Além disso, todas as cepas de *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *K. terrigena*, *P. vulgaris* e *M. Morgani* testadas foram resistentes ao referido antibiótico, revelando a ineficácia do mesmo no tratamento das ITU por estas bactérias.

Tabela 3. Enterobactérias isoladas da urina de pacientes com ITU, de acordo com a faixa etária, atendidos no Hospital Adventista de Belém, no ano de 2002.

BACTÉRIA ISOLADA	Criança		Adulto		Idoso		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Escherichia coli</i>	14	16,5	25	29,4	24	28,2	63	74,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	01	1,2	04	4,7	04	4,7	09	10,6
<i>Proteus mirabilis</i>	01	1,2	03	3,5	01	1,2	05	5,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	0	0	02	2,4	02	2,4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	01	1,2	0	0	01	1,2	02	2,4
<i>Klebsiella terrigena</i>	0	0	01	1,2	0	0	01	1,2
<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	0	0	01	1,2	01	1,2
<i>Morganella morgani</i>	0	0	01	1,2	0	0	01	1,2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	0	0	01	1,2	01	1,2
TOTAL	17	20	34	40	34	40	85	100

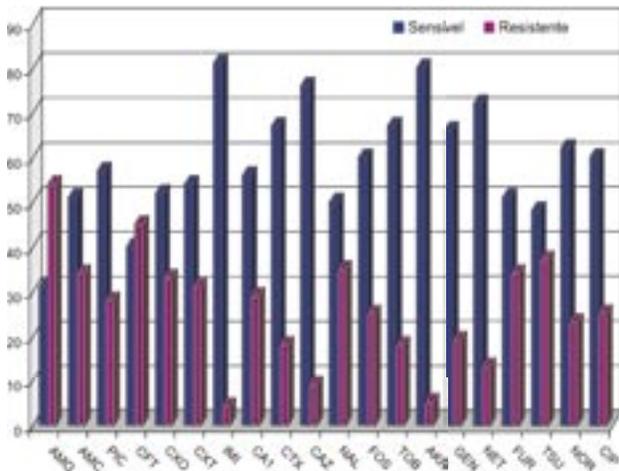


Figura 1. Suscetibilidade antimicrobiana (%) de enterobactérias isoladas da urina de pacientes com ITU no Hospital adventista de Belém, no ano de 2002.

A demonstração da resistência á vários antibióticos, por outras bactérias Gram-negativas isoladas de pacientes com ITU têm sido descritas, principalmente por *P. aeruginosa*^{6,10,14}. O uso abusivo de antibióticos no tratamento das ITU, principalmente de origem hospitalar, pode levar a uma piora da infecção e favorecer o aparecimento de bactérias resistentes. Em vista disso, torna-se necessárias campanhas que visem desestimular o uso indiscriminado e por automedicação de antibióticos nas ITU, procurando orientar a população para os riscos deste ato.

CONCLUSÕES

1. *E. coli* foi a enterobactéria mais prevalente em todos os tipos de pacientes com ITU, sendo também a espécie bacteriana que mais apresentou resistência aos antibióticos testados.
2. As cepas testadas revelaram maiores índices de suscetibilidade frente a Imipinema e Amicacina e de resistência frente a Amoxicilina.
3. Entre todas as espécies bacterianas testadas, apenas uma cepa de *E. coli* mostrou resistência frente ao imipinema, revelando a alta eficiência da droga.
4. Os pacientes com ITU foram a maioria do sexo feminino.
5. É recomendável rever os antibióticos que tenham eficácia em ITU, principalmente contra *E. coli*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CHAVES et al., 2003 CHAVES, J.M.; MENEZES, E.A.; MOREIRA, A.A.; CUNHA, F.A.; CARVALHO, T.M.J.P. Perfil de sensibilidade dos

antimicrobianos utilizados em infecções urinárias de pacientes do Hospital de Referência São Lucas da Cidade de Crateús-Ceará. *Infarma*, v. 15, n.1-2, p. 9-10, 2003.

2. DAZA, R.; GUTIERREZ, J.; PIEDROLA, G.: *Antibiotic Susceptibility of Bacterial Strain Isolated from Patient with Community-Acquired Urinary Tract Infections*. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?SUBMIT=Y. Acesso em 06 ago., 2001.
3. GIOPO et al., 2003 GIOPO, N.M.; INOKUMA, S.Y.; DEL MORO, F.; GANDRA, R.F. MARCONDES, N.R. Resistência aos antimicrobianos apresentados por cepas de *E. coli*, *K. pneumoniae* e *E. aerogenes* isolados de urina de pacientes do HUOP-Cascável-PR. In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2003., *Resumos*. Florianópolis-SC, Brasil, 2003, MC 034.
4. GRUDE, N.; TVETEN, Y.; KRISTIANSEN, B.E.: *Urinary Tract Infections in Norway: Bacterial Etiology and Susceptibility. A Retrospective Study of Clinical Isolates*. Disponível em: www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?SUBMIT=Y, Acesso em 06 ago., 2001.
5. MARAGONI, D; RAPPANINI, C.; MEURER, B.: *Infecções do Trato Urinário*. In: SCHECHTER, M.; MARAGONI, D. (eds.). *Doenças Infecciosas: Conduta Diagnóstica e Terapêutica*. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1998, p. 425-55.
6. MENEZES, E.A.; SILVEIRA, L.A.; CUNHA, F. A.; CAVALCANTE, M.S.; TEIXEIRA, A. B.; OLIVEIRA, I.R.N.; SALVIANO, M.N.C. Perfil de resistência aos antimicrobianos de *Pseudomonas* isoladas no Hospital Geral de Fortaleza. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, vol. 35, n.4, p. 177-180, 2003.
7. MIMS, C.; PLAYFAIR, J.; ROITT, I.; WAKELIN, D.; WILLIAMS, R.: *Microbiologia Médica*, 2ª edição, São Paulo, Manole, 2002, 584p.
8. NICOLLE, L.E.: *Urinary Tract Infection: Traditional Pharmacologic Therapies*. Disponível em: www.medline.com.br. Acesso em 06 ago., 2003.
9. PADOVEZE & OLIVEIRA, 2000 PADOVEZE, M.C. & OLIVEIRA, E.L. Bactérias multiresistentes. Disponível em: <http://www.google.com>. Acesso em 16 jun, 2000.
10. PAVIANI, E.R.; STADNIK, C.B.; HEINEK, I. Estudo da epidemiologia e do Perfil de sensibilidade da *Pseudomonas aeruginosa*. *Infarma*, v.15, n11/12, p.66-70, 2003.
11. PEREIRA et al., 200 PEREIRA, R.S.; SUMITA, T.C.; JORGE, A.C.; UENO, M. Sensibilidade aos antibióticos em bactérias Gram negativas envolvidas em infecção do trato urinário. In: XXII CONGRESSO BRASILEIRO DE MICROBIOLOGIA, 2003, *Resumos*. Florianópolis-SC, Brasil, 2003, MM 325.
12. TORTORA, J; FUNKE, B; CASE, C.; *Microbiologia*. 6ª. Edição, São Paulo, Artmed, 2002, 827p.
13. TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J. *Microbiologia*, 4ª edição, Livraria Atheneu, Rio de Janeiro, 2004, 718p.
14. VIEIRA, J.M.S.; VIEIRA, A.B.R.; PINHEIRO, S.; PICANÇO, M.; BRABO, M. Sensibilidade a antibióticos de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* isoladas de processos clínicos infecciosos. *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, v.2, n.28, p.65-67, 1996.

VALIDADE DE MEDICAMENTOS. ÊNFASE EM FÁRMACOS UTILIZADOS NO TRATAMENTO DE DOENÇAS REUMATOLÓGICAS

L. B. LEAL¹
M. C. T. SILVA²
D. P. SANTANA³

1. Farmacêutica, doutoranda do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE, Brasil.
2. Graduanda do Curso de Farmácia, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Recife, PE, Brasil.
3. Doutor em Tecnologia dos Medicamentos, docente do Departamento de Farmácia da Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Av. Prof. Arthur de Sá, s/n; 50740-520, Recife, PE, Brasil.

Autor responsável: L. B. Leal. E-mail: leilaleal2@yahoo.com.br

Antes da década de 1960, exceto pela insulina e antibióticos, a maioria das embalagens comerciais de produtos farmacêuticos não apresentava prazo de validade. Era comum encontrar produtos farmacêuticos nas seções de dispensação de farmácias que tinham 20 ou 30 anos. Isto mudou, gradualmente, durante a década de 1970, de maneira que, em 28 de setembro de 1978, as regulamentações sobre as boas práticas de fabricação exigiram prazo de validade de quase todos os produtos farmacêuticos fabricados e distribuídos às farmácias (THOMPSON, 2006).

O prazo de validade de medicamentos, de acordo com a definição, significa a data limite para utilização de um produto. Identifica o tempo durante o qual o medicamento deve cumprir as exigências da monografia farmacopeica, desde que guardados sob as condições de armazenagens prescritas (THOMPSON, 2006; RDC nº 33/00). Embora possa ser arbitrário determinar um prazo de validade para produtos farmacêuticos elaborados pela indústria farmacêutica e fracionados para a dispensação, há um problema ainda maior em determinar os prazos de validade para produtos manipulados (THOMPSON, 2006).

Assim, de modo geral, o prazo de validade dos medicamentos está relacionada a cinco aspectos básicos (THOMPSON, 2006; ANSEL, 2000):

- Armazenamento do medicamento: A embalagem usada deve garantir a integridade e estabilidade do(s) fármaco(s);
- Forma-farmacêutica utilizada: Trata-se do tipo de preparação onde está introduzido o princípio ativo, seja ela sólida, semi-sólida ou líquida;
- Interação entre os constituintes da formulação – Interação droga-droga e/ ou droga-excipiente;
- Natureza dos ingredientes: Podem ser intrinsecamente mais ou menos estáveis do ponto de vista químico;

- Procedimentos de manipulação: A variação dos procedimentos de manipulação e dos equipamentos usados podem afetar a estabilidade do produto final. As propriedades físicas de uniformidade do produto e taxa de sedimentação de suspensões é um bom exemplo disto;

Neste caso, pode-se dizer que a validade do medicamento (no caso do medicamento industrializado) é aquela descrita na caixa do produto, ou no blister da forma farmacêutica sólida.

Após a aquisição de um medicamento, é importante observar a bula e respeitar as condições de conservação descritas pelo fabricante do medicamento. Por exemplo, Se este produto deve ser conservado entre 2 e 30°C, protegido da luz.

Se um medicamento pode ser degradado em presença da luz, normalmente, ele é envasado em um recipiente que o protege da luz, como recipiente de vidro âmbar, utilizado para acondicionar um xarope, ou em blister opaco, no caso de comprimidos e cápsulas, por exemplo.

No caso específico do medicamento manipulado, eles devem ser utilizados apenas durante o período de tratamento prescrito pelo médico. Eles são chamados de medicamentos extemporâneos, ou seja, devem ser feitos para o paciente utilizar durante um tempo específico e que é normalmente pequeno (RDC nº 33/00).

Estes medicamentos, via de regra, não podem apresentar a mesma validade do medicamento industrializado já que não apresentam estudos que comprovem sua conservação e estabilidade, visto que via de regra, não existe uma padronização com relação ao excipiente ou veículo utilizado entre as farmácias, ou o que é mais importante, não existem estudos relativos à estabilidade de uma série de drogas associadas como é o caso dos medicamentos utilizados no tratamento de doenças reumatológicas onde são associados relaxantes musculares, analgésicos, anti-

inflamatórios, anti-artríticos, antimaláricos, entre outros (BATISTUZZO, 2002). Nestes casos, existe toda uma preocupação relacionada ao efeito terapêutico destes medicamentos, além da dificuldade de determinar, o seu prazo de validade real.

Quando se compra medicamentos industrializados e normalmente não se utiliza todo o conteúdo, é comum, encontrar, em casa, sobras de medicamentos oriundos de tratamentos anteriores. Daí, é necessário tomar alguns cuidados:

- Manter os medicamentos fora do alcance de crianças;
- Manter os medicamentos em local fresco, longe do sol e calor, caso não exista recomendação do fabricante sobre seu armazenamento.

É justamente neste sentido que reside uma das vantagens da Farmácia Magistral, no que concerne a preparação do medicamento na quantidade exata do tratamento (FERREIRA, 2000). Neste mesmo contexto está a importância do fracionamento de medicamentos industrializados (Resolução RDC nº 135/05).

Mas quando se trata de prazo de validade de medicamentos, é preciso levar em consideração também a validade destes após a abertura. Assim sendo, até quando utilizar um medicamento depois de aberto? Pode-se então partir da forma farmacêutica do medicamento para responder esta pergunta.

Os prazos de validade para produtos tópicos normalmente não é tão crítico como os de formas farmacêuticas para uso interno, pois os produtos externos não serão ingeridos e porque a terapia tópica normalmente é menos precisa e menos crítica (THOMPSON, 2006).

1 – Medicamentos semi-sólidos (pomada, creme, etc) – observar principalmente as características do produto. Conforme o armazenamento do medicamento, ele pode apresentar principalmente alteração na coloração e/ou consistência. Caso isto ocorra, desprezar o medicamento. Caso contrário, utilizar durante a validade descrita pelo fabricante. Se for produto oftálmico ou para aplicação tópica, próximo da área dos olhos, depois de aberto, usar apenas durante o tratamento descrito pelo médico, desprezando o restante do produto (FERREIRA, 2000).

2 – Medicamentos líquidos, é preciso fazer várias considerações, dependendo da forma farmacêutica.

• **Xaropes** – o açúcar presente no xarope age como um conservante, por isso, esta forma farmacêutica tende a ser mais estável que uma solução. Deve-se então avaliar as características da preparação como: presença de precipitados depositados no fundo do recipiente; modificação na cor e/ou cheiro da preparação; e principalmente, a presença de turvação ou presença de espumas no xarope. Nestes casos, o medicamento deve ser desprezado. Se não há alteração, utilizar durante a validade descrita na caixa do produto (ANSEL, 2000; FERREIRA, 2000; Resolução RDC nº 135/05).

• **Solução oral** – É uma preparação de fácil degradação. Por ser uma forma farmacêutica que contém muita

água, propicia também a contaminação microbiana. Assim sendo, estes medicamentos devem ser utilizados apenas durante o período de tratamento prescrito. Em se tratando de soluções orais manipuladas, a validade do medicamento é normalmente de 14 dias, a partir da data de sua preparação. Caso não seja utilizada até este período, a preparação deve ser desprezada (FERREIRA, 2000).

• **Solução otológica** – Normalmente são medicamentos encontrados em frasco conta-gotas, tendo deste modo um menor contato com o oxigênio. São líquidos viscosos, sendo mais difícil ocorrer degradação microbiana dos ativos incorporados. Por isso, se bem conservados, esses medicamentos estão em condições de utilização durante a validade descrita no recipiente do medicamento. É preciso, no entanto, muita atenção na utilização de soluções otológicas guardadas em casa pois, por serem medicamentos pouco utilizados, (exceto no caso de pacientes que tem problemas auditivos constantes), numa outra necessidade de uso, eles já podem estar fora do prazo de validade (ANSEL, 2000; FERREIRA, 2000; Resolução RDC nº 135/05).

• **Suspensão oral extemporânea** – são medicamentos vendidos normalmente como partículas finas (pós) em recipientes âmbar, que no momento da utilização, deve-se colocar água até uma marca determinada e agitar vigorosamente por cerca de 1 minuto. No momento de ser administrada, deve-se agitar a preparação para que a dosagem seja correta. Após reconstituição do volume, agitar. Este medicamento tem um prazo de validade normalmente de 14 dias se conservado segundo a orientação do fabricante, como pode ser observado para a suspensão oral de amoxicilina (NEOQUÍMICA, 2006).

Atenção: Este período não é padronizado. A suspensão oral de azitromicina, por exemplo, tem um prazo de validade após reconstituição do volume de no máximo 5 dias (SCHERING, 2006).

• **Colírios** – São preparações destinadas a serem aplicadas nos olhos. Os olhos estão entre as regiões mais sensíveis que existem no nosso corpo, daí a preocupação na administração de medicamentos. Estes medicamentos são produtos estéreis e nunca devem ser manipulados extemporaneamente, a menos que possam ser tornados estéreis, incluindo o uso de recipientes esterilizados (THOMPSON, 2006). Mesmo para um fármaco estável, formulado como medicamento estéril, prazos de validade mais curtos são recomendados para estas formas farmacêuticas, devido ao perigo de contaminação pelo paciente, durante o uso, bem como devido às sérias consequências decorrentes do modo de uso (Pharmacopeial Fórum, 1998; FORD, 1985). Assim, é necessário todo o cuidado no momento da aplicação do medicamento, para que não haja contaminação dos olhos através do bico do recipiente do colírio. Devido aos fatos citados, desprezar o medicamento logo após o prazo de validade do mesmo.

ATENÇÃO: Verificar na bula dos colírios no tópico Informações ao paciente ou Cuidados de Armazenamento, a

existência ou não de condições de armazenamento e dados sobre a validade do produto, como pode ser observado no colírio Xalatan®, mostrado abaixo (PFAZER, 2006):

“Este medicamento deve ser guardado sob refrigeração (2 à 8°C) e ao abrigo da luz. Após abertura do frasco, o produto deve ser conservado à temperatura ambiente (no máximo 25°C) por até 10 semanas”.

Neste caso, na bula colírio Xalatan®, está descrito exatamente o prazo de validade deste medicamento após abertura, que é 10 semanas.

3 – Medicamentos sólidos (comprimido ou cápsula) – neste caso, estes medicamento estão em blisters, bem fechados, não entrando em contato com o ambiente. O procedimento é retirar o medicamento e observar as suas características como modificações na consistência, na cor ou no odor. Caso tenha ocorrido alguma das modificações citadas, o medicamento deve ser desprezado, independente de sua validade. Caso o medicamento não apresente nenhuma destas alterações, utilizar durante a validade descrita pelo fabricante. Com relação ao medicamento manipulado, que é dispensado via de regra em potes plásticos lacrados, deve ser considerado o prazo de validade descrito no rótulo do produto independente de estar aberto ou não.

De acordo com a USP capítulo 1161, ao dispensar um medicamento estável, encapsulado ou pó seco, em um recipiente hermético, com instruções apropriadas de armazenagem, a regra de seis meses -25% será adequada para a maioria das circunstâncias (THOMPSON, 2006). Se um recipiente hermético não pode ser usado, é necessária uma abordagem mais conservadora. Dispensar um número limitado de unidades e atribuir um prazo de validade de duas vezes a quantidade de tempo que o paciente levaria para usar a prescrição, considerando que a medicação seja usada corretamente, é outra maneira de colocar a validade do medicamento sólido manipulado (THOMPSON, 2006).

No entanto, devido à falta de literatura relacionada à estabilidade de fármacos, como determinar o prazo de validade destes medicamentos? A grande maioria dos medicamentos sólidos manipulados são de fármacos associados e assim, é relativamente comum ocorrer o escurecimento destas preparações, demonstrando que houve uma reação entre os ativos ou entre ativos e excipientes pois, mesmo sendo o excipiente considerado inerte, ele pode reagir com alguns fármacos, chegando a modificar sua biodisponibilidade. Biodisponibilidade significa a medição da velocidade e quantidade total da droga que chega a circulação a partir de uma forma farmacêutica administrada (REMINGTON, 1995)

Em estudos realizados por nossa Equipe de trabalho, utilizando a análise Térmica para verificação de interações entre os fármacos Ciclobenzaprina (C), potente relaxante muscular que atua no sistema nervoso central a nível cerebral, Prednisona (P), glicocorticóide com propriedades antiinflamatórias e imunossupressivas, Meloxicam (M), um

potente antiinflamatório mono-esteroidal, derivado dos oxicanos e seletivo para isoenzima COX-2 e a Diacereína (D), utilizada no tratamento sintomático e nas manifestações da osteoartrite, verificou-se que a ciclobenzaprina como fármaco isolado demonstrou uma degradação após aquecimento de apenas 5,68%. No entanto, quando associada a prednisona, a diacereína e ao meloxicam ela degradou aproximadamente 68,59%, 57,38% e 53,09%, demonstrando que existe a formação de misturas eutéticas entre estes fármacos de forma a aumentar ainda mais a possível instabilidade da preparação quando estes medicamentos estão associados (VASCONELLOS, 2006). Assim sendo, associações de ativos em uma mesma forma farmacêutica que é uma das vantagens da Farmácia Magistral, pode se tornar uma desvantagem quando não existe segurança na sua manipulação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Aprova o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos. Resolução RDC nº 33, de 19 de abril de 2000. D.O.U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 24 de abril de 2000. Disponível em: <http://elegis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=20015&word=>. Acesso em: 17/09/2006.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Estabelece os critérios que devem ser obtidos para o fracionamento de medicamentos. Resolução RDC nº 135, DE 18 DE MAIO DE 2005. D.O.U. – Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 20 de setembro de 2005. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/search.php>. Acesso em: 16/09/2006.
- ANSEL, Howard C.; POPOVICH, Nicholas G.; ALLEN, Loyd V. Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos. 6.ed. São Paulo: Premier, 2000. 568p.
- BATISTUZZO, J.A.O., ITAYA, M., ETO, Y. Formulário Médio-Farmacêutico. 2. ed. São Paulo: Tecnopress, 2002.
- FERREIRA, A. O Guia Prático de Farmácia Magistral. 2. ed. Juiz de Fora, 2000.
- FORD, J.L, Brown MW, Hunt PB. A note on the contamination of eye-drops following use by hospital out-patients. J. Clin. Hosp. Pharm (10) 203-209, 1985.
- Pharmacopeial Fórum. Rockville, MD: The United States Pharmacopeial Convention, Inc., 1998; 24:43-56.
- REMINGTON, J.P. Farmácia, ed. 17, Buenos Aires: Panamericana, 1995, v. 2.
- THOMPSON Judith, E. A Prática Farmacêutica na Manipulação de Medicamentos. Porto Alegre: Artmed, 2006. p. 37-45.
- VASCONELLOS, P. B. Estudo Termoanalítico e Cromatográfico de fármacos anti-reumáticos freqüentemente manipulados pelo setor magistral. Recife: Universidade Federal de Pernambuco, 2006. Tese de Mestrado.

VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA PARA HIDRÓXIDO DE ALUMÍNIO EM SUSPENSÃO ORAL

JOÃO CÉSAR FERREIRA DE ARAÚJO¹
CRESCENCIO ANDRADE SILVA FILHO²
GUSTAVO LUIZ B.XAVIER CARDOS³
PRISCILLA RODRIGUES²

1. Farmacêutico responsável do Laboratório Farmacêutico do Recife,
2. Químico industrial do Laboratório Farmacêutico do Recife
3. Graduando em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco.

Autor responsável: J.C.F. Araújo. E-mail: joaohav@hotmail.com

INTRODUÇÃO

Atualmente, quando todos os caminhos levam à busca da qualidade total, torna-se indispensável conhecer perfeitamente cada fase de um processo produtivo. Segundo a "Farmacopéia Americana" 24 ed. a validação de métodos analíticos "é o processo pelo qual é estabelecido, por estudos de laboratório, que as características executadas do método satisfazem os requisitos para as aplicações analíticas praticadas". Em outras palavras, seria o processo pelo qual, parâmetros de méritos são determinados e avaliados, sendo estes importantes partes de um programa de garantia da qualidade.

Os órgãos regulamentadores exigem a validação, considerada um dos requisitos essenciais para qualidade dos medicamentos. O planejamento dos estudos de validação é um aspecto fundamental para garantir que os resultados obtidos reflitam a operação dos procedimentos analíticos e que o método forneça informações confiáveis. Embora existam diversos guias descrevendo a validação de métodos cromatográficos, comparativamente pouco se tem dito a respeito da validação de métodos não cromatográficos (Brittain, 1998).

Na análise titulométrica ou titulometria, o constituinte desejado é determinado, medindo-se a sua capacidade de reação frente a um reagente adequado usado, na forma de solução com concentração conhecida, denominado solução padrão ou solução titulante. Esta solução é adicionada progressivamente ao constituinte, até completar a capacidade de reação deste.

A quantidade do constituinte é encontrada em função do volume ou peso da solução padrão, gasto na titulação. A etapa considerada a mais crítica da titulação é a parte final, em que um sinal deve indicar que a capacidade de reação do constituinte esgotou-se. Esta etapa é denominada de ponto de equivalência ou ponto final teórico, e corresponde a adição do reagente titulante em quantidade exatamente equivalente a quantidade do constituinte originariamente presente.

Para facilitar a visualização do ponto de equivalência é adicionado ao sistema um reagente auxiliar denominado de indicador, capaz de produzir uma mudança de coloração muito próxima do ponto final da titulação (Basset, 1981). A titulometria é considerada um método de análise, simples, barato e rápido.

Algumas titulações requerem a adição de um volume medido de uma solução volumétrica em excesso da quantidade realmente necessária para reagir com a substância, para assim titular esse excesso com uma segunda solução volumétrica. Este processo constitui uma titulação indireta, sendo também conhecida como titulação pelo resto (Farmacopéia Brasileira 3. ed., 1997).

Nesse contexto, no presente trabalho, propõem-se a validação da metodologia analítica de doseamento por titulação indireta do medicamento similar Hidroxizol® (hidróxido de alumínio 62mg/mL) suspensão oral, produzido no LAFARE, Laboratório Farmacêutico do Recife.

O hidróxido de alumínio suspensão oral é um composto que tem a finalidade de neutralizar o ácido produzido pelo estômago. Suas propriedades antiácidas e a adequação terapêutica são muito influenciadas pelo cátion metálico.

Os antiácidos variam na intensidade com que são absorvidos. Os que contêm alumínio, ou qualquer outro cátion metálico bivalente ou trivalente são menos completamente absorvidos do que antiácidos que contêm cátions monovalentes, como o NaHCO_3 , por exemplo.

Os antiácidos insolúveis, que não reagem, passam pelo intestino e são eliminados nas fezes. Quando os produtos dos antiácidos que reagiram entram no intestino, alguns cátions são absorvidos. Nos indivíduos com função renal normal, os modestos acúmulos subseqüentes de alumínio (Al^{3+}) não causam problemas.

O hidróxido de alumínio suspensão oral é indicado em quadros que produzem hiperacidez gástrica. Seu uso é contra-indicado em gestantes no primeiro trimestre da gravidez e em pacientes com hipofosfatemia, devido à propriedade dos sais de alumínio ligarem-se ao fosfato, depletando-o.

Tabela 1. Resultados da Especificidade.

Produto	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Média		Desv. Pad.		CV(%)	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
Hidroxizol	63	101	63	101	63	102	63	101	0,29	0,46	0,45	0,45
Placebo	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Tabela 2. Resultados da robustez variando o parâmetro: marca do reagente do sal EDTA

Marca do sal do reagente EDTA	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Média		Desv. Pad.		CV(%)	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
Vetec	64	103	63	102	64	103	63	102	0,28	0,46	0,45	0,45
Reagen	63	101	63	102	64	102	63	102	0,28	0,45	0,45	0,44

Também é contra-indicado em pacientes com sintomas de apendicite, uma vez que este medicamento pode aumentar o risco de perfuração, por efeito constipante.

MATERIAL E MÉTODOS

A preparação dos reagentes envolvidos na metodologia de análise foi feita exclusivamente para este fim. Foram utilizadas vidrarias previamente calibradas e reagentes preparados conforme metodologias farmacopéicas, de forma a minimizar possíveis variáveis que poderiam influenciar na confiabilidade do método empregado.

Desta forma, determinou-se que o mesmo analista seria o responsável pela análise das amostras a serem efetuadas, (exceto quando do estudo de precisão), bem como da preparação de todos os reagentes que foram necessários.

Desenvolvimento do Método de Análise

O método utilizado de titulação indireta, foi adaptado da metodologia analítica de doseamento do gel de hidróxido de alumínio (matéria-prima) presente na USP (The United States Pharmacopeia) Ed 23.

RESULTADOS

Segundo a Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003, uma metodologia será considerada validada, desde que sejam avaliados os parâmetros: especificidade e seletividade, linearidade, intervalo de variação, precisão, limite de detecção/sensibilidade, limite de quantificação, exatidão e robustez.

Especificidade e Seletividade

A especificidade de um procedimento analítico representa sua capacidade de avaliar de forma inequívoca a substância em exame na presença de componentes que poderiam interferir com a sua determinação numa mistura complexa (Brittain, 1998). Pode ser demonstrada comparando os resultados dos testes de amostras contendo impurezas, produtos de degradação, ou ainda através do placebo,

com valores encontrados após análise da amostra sem os interferentes.

O ensaio foi determinado pela análise das amostras em triplicata de um placebo desenvolvido em lote de bancada (500mL) exclusivamente para este fim, comparado à análise das amostras também em triplicata do padrão de trabalho (hidróxido de alumínio 62mg/mL Suspensão Oral – Hidroxizol®).

Os resultados obtidos com o parâmetro seletividade/especificidade estão expostos na tabela 1.

Os resultados da especificidade apresentados na tabela 01 comprovam que os excipientes não interferem no doseamento por titulação do hidróxido de alumínio 62mg/mL suspensão oral.

Robustez

A robustez do método é a medida da capacidade que o método apresenta em se manter inalterável através de pequenas, mas deliberadas modificações em seus parâmetros e fornecer indicações de segurança durante o uso normal (USP/NF Ed 24, 1999).

O ensaio foi determinado a partir da variação do parâmetro: marca do fabricante do reagente do sal EDTA (Vetec® x Reagen®).

Foram realizadas análises de amostras em triplicata na concentração de 62mg/mL (100%) para o parâmetro variado da robustez.

Os resultados obtidos com o parâmetro robustez variando a marca do sal do reagente EDTA estão demonstrados na tabela 02. Foi realizado o tratamento estatístico por teste t de student, demonstrado na tabela 03, para analisar se havia diferença entre as médias obtidas a partir das diferentes marcas do sal utilizado para a preparação do reagente EDTA 0,05M (SV).

Tabela 3. Teste t de student entre as diferentes marcas do sal do reagente EDTA.

t calculado	t tabelado
1,067	2,776

O método de doseamento por análise titulométrica é robusto, pois de acordo com os resultados obtidos, como o *t* calculado é menor do que o *t* tabelado, podemos afirmar com 95% de confiança que não há diferença estatisticamente significativa entre os parâmetros avaliados. As variações encontradas refletem erros aleatórios durante o procedimento analítico, os quais não interferem no resultado final.

Linearidade:

É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (Resolução-RE n° 899, de 29 de maio de 2003).

O presente ensaio foi realizado através da análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios de três curvas autênticas com cinco pontos correspondentes às concentrações de 49,6mg/mL, 55,8mg/mL, 62mg/mL, 68,2mg/mL e 74,4mg/mL de hidróxido de alumínio. O coeficiente de correlação foi obtido através da média das três curvas autênticas.

Os resultados do estudo de linearidade estão expostos na tabela 04, assim como o estudo dos resultados das análises de variância apresenta-se na tabela 05.

Os resultados dos pontos das três curvas de linearidade foram plotados em um único gráfico (linearidade final), onde o mesmo encontra-se apresentado na figura 01. O eixo das ordenadas (*y*) representa o volume de EDTA complexado com o alumínio e o eixo das abscissas (*x*) representa as concentrações do hidróxido de alumínio suspensão oral empregadas. Pelo método dos mínimos quadrados, obteve-se a equação da reta, onde:

$$Y = 0,2043x + 0,236$$

A análise da regressão linear pelo método dos mínimos quadrados demonstrou um coeficiente de correlação

(R^2) muito próximo da unidade (0,9995), o que comprova a linearidade do método.

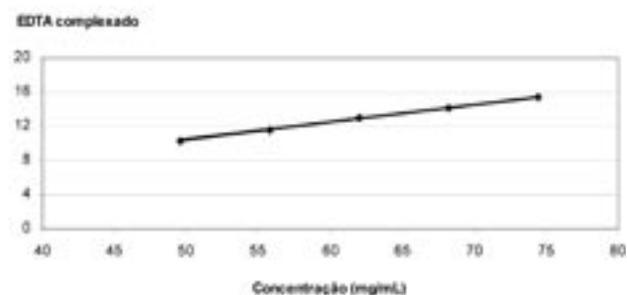


Figura 1. Linearidade do método verificando a regressão da média de três curvas autênticas de calibração.

$$y = 0,2043x + 0,236$$

$$r^2 = 0,999$$

Através da análise de variância (ANOVA) representada na tabela 05, podemos testar a validação do modelo linear e a significância estatística da curva ajustada. Podemos verificar se houve falta de ajuste (*F*) através da razão entre a média quadrática devido à falta de ajuste e a média quadrática devido ao erro puro.

$$F = MQ_{faj} / Mq_{erp} = 0,0074 / 0,0027 = 2,7917$$

Esta relação apresentou um valor de *F* (2,79167) abaixo do valor crítico tabelado (3,7083), o que significa que podemos afirmar com um intervalo de 95% de confiança que o modelo linear está bem ajustado na faixa de concentração estudada (Pimentel & Neto, 1996).

A reta de regressão linear apresentou um $R^2 = 0,99898$, calculado a partir da relação entre a soma quadrática devido à regressão e a soma quadrática total.

$$R^2 = SQ_{reg} / SQ_{tot} = 48,1333 / 48,1823 = 0,999$$

Tabela 4. Resultados da Linearidade

Concentrações (mg/mL)	Volume de EDTA complexado com o Alumínio (mL)			Média das curvas (mg/mL)	Desv. Padrão	CV(%)
	Curva 1	Curva 2	Curva 3			
49,6	10,3	10,4	10,35	10,35	0,05	0,483
55,8	11,7	11,6	11,5	11,6	0,1	0,862
62,0	12,95	12,95	12,95	12,95	0,00	0,00
68,2	14,2	14,2	14,2	14,2	0,00	0,00
74,4	15,35	15,4	15,4	15,38	0,028	0,187

Tabela 5. Resultados da Análise de Variância da Linearidade.

Fonte	SQ	GL	MQ	F	F-crítico
Modelo (reg)	48,133	1	48,133	12770	4,6672
Residual (res)	0,049	13	0,0038	Curva Linear	
Falta de ajuste (faj)	0,022	3	0,0074	2,792	3,7083
Erro puro (erp)	0,027	10	0,0027	Não há falta de ajuste	
Total (tot)	48,18	14	3,442		

O valor máximo que R^2 poderia assumir pode ser dado pela expressão:

$$R^2_{\text{máximo}} = \frac{SQ_{\text{tot}} - SQ_{\text{erp}}}{SQ_{\text{tot}}} = \frac{48,1823 - 0,0267}{48,1823}$$

$$R^2_{\text{máximo}} = 0,99945$$

Desta forma, o gráfico de regressão linear (Figura 2) apresentou uma reta com um $R^2_{\text{explicável}} = 0,99954$ calculado a partir da relação:

$$R^2_{\text{explicável}} = R^2 / R^2_{\text{máximo}} = 0,99898 / 0,99945 = 0,99954$$

Como a capacidade explicativa de um modelo pode ir de 0 (zero) até no máximo (1), $0 \leq R^2 \leq 1$, quanto mais próximo de 1 (um) estiver o R^2 , melhor terá sido o ajuste do modelo às respostas observadas. Portanto, como o $R^2_{\text{explicável}} = 0,99954$, o modelo pode explicar 99,954% da variância máxima, o que é considerado um valor satisfatório, restando 0,046% para ser explicado pelos resíduos.

Intervalo de Variação:

O intervalo especificado é a faixa entre os limites de quantificação superior e inferior de um método analítico. Normalmente é derivado do estudo de linearidade e é estabelecido pela confirmação de que o método apresenta exatidão, precisão e linearidade adequados quando aplicados a amostras contendo quantidades de substâncias dentro do intervalo especificado (Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003).

Segundo a resolução acima citada, para se determinar quantitativamente o analito em uma forma farmacêutica, o intervalo a ser tomado deve compreender a faixa de pelo menos 80 a 120% da concentração teórica do teste.

Precisão:

A precisão de um procedimento analítico representa o grau de concordância entre os resultados de análises individuais quando o procedimento é aplicado repetidamente a múltiplas amostragens de uma mesma amostra homogeneia, em idênticas condições de testes. A precisão é geralmente expressa pelo desvio padrão ou desvio padrão relativo dos resultados obtidos (Brittain, 1998).

Pode ser avaliada em três níveis: repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade. A repetibilidade (precisão intra-ensaio) é a concordância entre os resultados dentro de um curto período de tempo com o mesmo analista e mesma instrumentação. A precisão intermediária (precisão inter-ensaio) corresponde a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, porém obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes.

Para este trabalho, a precisão foi determinada através dos métodos de repetibilidade e precisão intermediária. A repetibilidade foi determinada pela análise de seis amostras individuais, ou seja a partir da análises de amostras oriundas de seis soluções-mãe diferentes. A precisão intermediária foi determinada em triplicata, em dois dias, por dois analistas diferentes.

Repetibilidade:

Os resultados obtidos com o parâmetro repetibilidade estão expostos na tabela 06.

Tabela 6. Resultados da Repetibilidade.

Amostras	Concentração (mg/mL)	Teor (%)
01	63,62	102,61
02	62,88	101,43
03	64,10	103,39
04	62,15	100,25
05	62,64	101,03
06	62,15	100,25
Média	62,92	101,49
Desvio Padrão	0,793	1,280
CV (%)	1,261	1,261

Observando-se os resultados expostos na tabela 06, podemos concluir que o método tem uma boa repetibilidade, visto que o coeficiente de variação (CV) é inferior ao especificado pela Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003, a qual especifica o limite do coeficiente de variação em 5,0%.

Tabela 7. Resultados da precisão Intermediária do analito a 100% (62mg/mL) no primeiro dia.

Analista	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Média		Desv. Pad.		CV(%)	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
1	62,15	100,25	62,40	100,64	62,64	101,04	62,39	100,64	0,245	0,395	0,392	0,392
2	63,13	101,82	62,64	101,04	62,15	100,25	62,64	101,04	0,490	0,785	0,782	0,777

Tabela 8. Resultados da precisão Intermediária do analito a 100% (62mg/mL) no segundo dia.

Analista	Amostra 1		Amostra 2		Amostra 3		Média		Desv. Pad.		CV(%)	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
1	62,64	101,04	62,40	100,64	62,88	101,43	62,64	101,04	0,240	0,395	0,383	0,391
2	63,13	101,82	63,13	101,82	62,64	101,04	62,98	101,58	0,282	0,450	0,449	0,443

Precisão Intermediária:

Os resultados obtidos com o parâmetro precisão intermediária estão expostos nas tabelas 07 e 08. Foi realizado o tratamento estatístico por teste t de student, demonstrado nas tabelas 09, 10, 11 e 12, para analisar se havia diferença entre as médias obtidas entre os analistas no primeiro e no segundo dia, assim como entre o mesmo analista nos diferentes dias.

Tabela 9. Teste t de student entre analistas 1 e 2 no primeiro dia.

<i>t</i> calculado	<i>t</i> tabelado
0,806	2,776

Tabela 10. teste t de student entre analistas 1 e 2 no segundo dia.

<i>t</i> calculado	<i>t</i> tabelado
1,590	2,776

Tabela 11. Teste t de student do analista 1 entre o 1º e 2º dia.

<i>t</i> calculado	<i>t</i> tabelado
1,279	2,776

Tabela 12. Teste t de student do analista 2 entre o 1º e 2º dia.

<i>t</i> calculado	<i>t</i> tabelado
1,033	2,776

Conforme observado nos resultados das tabelas 09, 10, 11 e 12, como o *t* calculado é menor do que o *t* tabelado, podemos afirmar com 95% de confiança que não há diferença estatisticamente significativa entre dias e analistas. As pequenas variações encontradas demonstradas nas tabelas 07 e 08, refletem erros aleatórios durante o procedimento analítico, os quais se enquadram dentro dos limites especificados.

O valor máximo aceitável deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração do analito na amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 5% (Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003).

Tabela 13. Resumo estatístico das regressões das três curvas de calibração.

Coefficiente	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Média	Desv. Padrão
Angular	0,2032	0,2032	0,2065	0,2043	0,00190
Linear	0,3	0,31	0,08	0,236	0,13

Limite de detecção e Limite de Quantificação

Uma vez determinada a linearidade do método, os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) podem ser mensurados. Podemos resumir a estatística das regressões das três curvas nos números que representam seus coeficientes angulares e lineares, e assim utiliza-los para os cálculos de determinação dos limites. A tabela 13 mostra o resumo estatístico das regressões das três curvas autênticas de calibração.

$$LD = 3 \times DP / \bar{\alpha}$$

Onde: DP é o desvio padrão médio dos coeficientes lineares e $\bar{\alpha}$ a média dos coeficientes angulares.

$$LD = 3 \times 0,13 / 0,2043 \cong 1,909 \text{ mg/mL.}$$

$$LQ = 10 \times DP / \bar{\alpha}$$

Onde: DP é o desvio padrão médio dos coeficientes lineares e $\bar{\alpha}$ a média dos coeficientes angulares.

$$LQ = 10 \times 0,13 / 0,2043 \cong 6,366 \text{ mg/mL.}$$

Os limites de detecção e quantificação obtidos de acordo com o tratamento descrito mostram que o método apresentou uma boa sensibilidade ao hidróxido de alumínio, onde se é possível detectar um mínimo de aproximadamente 3% de hidróxido de alumínio presente em uma forma farmacêutica suspensão oral, assim como é possível quantificar com precisão e exatidão aceitáveis um mínimo de aproximadamente 10% desta substância na mesma forma farmacêutica pelo método empregado.

Exatidão:

A exatidão do método representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados e um aceito como referência (Swart & Krull, 1998).

A exatidão do método deve ser determinada após o estabelecimento da linearidade, do intervalo linear e da especificidade do mesmo, sendo verificada a partir de 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, em triplicata cada. A exatidão é expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente (Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003).

$$\text{Exatidão} = \text{concentração média} / \text{concentração teórica} \times 100$$

A exatidão foi obtida a partir de análises de amostras em concentrações conhecidas de hidróxido de alumínio, em triplicata, equivalentes a 50, 100 e 150% (baixa, média e alta) da concentração teórica analisada.

Os resultados obtidos com o parâmetro exatidão estão expostos na tabela. Foi realizado o tratamento esta-

Tabela 14. Resultados da Exatidão.

Análises	Con.Teórica	31 (mg/mL)	50(%)	62(mg/mL)	100(%)	93(mg/mL)	150(%)
Amostra 1		31,59	50,95	64,20	103,55	93,94	151,51
Amostra2		32,51	52,44	62,74	101,19	94,91	153,09
Amostra 3		32,02	51,66	63,71	102,76	93,84	151,36
Média		32,04	51,68	63,55	102,5	94,23	151,98
Desv. Padrão		0,460	0,745	0,743	1,201	0,591	0,958
CV (%)		1,436	1,441	1,169	1,171	0,627	0,630

tístico por teste t de student, demonstrado na tabela 14, para analisar se havia diferença entre as médias obtidas e os valores teóricos.

Tabela 15. Teste t de student para a exatidão para as concentrações equivalentes a 50, 100 e 150% da concentração teórica.

Concentração teórica	t calculado	t tabelado
50%	3,904	4,303
100%	3,604	4,303
150%	3,578	4,303

De acordo com o tratamento estatístico do teste t de student, como o t calculado é menor do que o t tabelado para as concentrações equivalentes a 50, 100 e 150% da concentração teórica, não há evidência de erro sistemático no método analítico, podendo-se afirmar que o método apresenta 95% de confiança segundo o tratamento estatístico empregado, comprovando-se assim sua exatidão.

CONCLUSÕES

O método foi validado conforme a legislação em vigor, onde os resultados obtidos mostram que o mesmo atende aos requisitos de Boas Práticas de Fabricação e Controle, pois apresenta especificidade, robustez, repetibilidade, precisão, linearidade, exatidão conferindo a confiabilidade exigida para um método analítico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANTÔNIO, I. R. O que significa validação para a indústria farmacêutica?. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 19, p. 45-47, ano 4, set./out. 2000.
- ANVISA, Agência nacional de Vigilância Sanitária, Resolução-RDC nº 210, de 04 de agosto de 2003, *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília. DOU de 14/08/2003.
- ANVISA, Agência nacional de Vigilância Sanitária, Resolução-RE nº 899, de 29 de maio de 2003, *Diário Oficial da República Federativa do Brasil*, Brasília. DOU de 02/06/2003.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS – NBR ISO 6023, ago. 2000.
- ATHAIDE, A. Validação comprova e documenta qualidade dos produtos e equipamentos. **Controle de Contaminação**, São Paulo, p.16-22, maio/jun. 2000.
- BASSET, J.; DENNEY, R. C.; JEFFERY, G. H.; MENDHAM, J. **Análise inorgânica quantitativa Vogel**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1981.
- BRITAIN, H. G. Validação de Métodos Analíticos Não Cromatográficos. **Pharmaceutical Technology**, v.2,p.4-9, Ed. Brasileira, junho. 1998.
- FARMACOPÉIA brasileira**. 3. ed. São Paulo: Andrei, 1977, p. 1036-1037.
- LABAN, F. Validação dos processos de limpeza. Tradução de J. P. Herlin. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 1, p. 18-22, set./out. 1997.
- LAFEPE**. Laboratório Farmacêutico de Pernambuco. Memento Terapêutico. Recife, maio 2000. 240 p. 1ª ed.
- MORETTO, L. D.; SHIB M. A era da validação. **Pharmaceutical Technology**, São Paulo, v.4, n.4, p.44-48, ago. 2000.
- NICOLÓSI, M. Validação de métodos analíticos. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 54, p. 12-21, ano 6, out. 2003.
- PIMENTEL, M. F. & BARROS NETO, B. Calibração: uma revisão para químicos analíticos. *Química Nova*. v. 19, n. 3, p. 268-277, 1996.
- SWARTZ, M. R. & KRULL, I. S. Validação de Métodos Cromatográficos, **Pharmaceutical Technology**, v. 2, n. 1, p. 12-20, 1998.
- UNITED States pharmacopeia (USP/NF)** 23. ed. Rockville U.S.: Pharmacopeial Convention, 1994. p. 66.
- UNITED States pharmacopeia (USP/NF)** 24. ed. Rockville U.S.: Pharmacopeial Convention, 1999. p. 2149-2163.
- VALENTINI, Sóstenes R. **Atributos da validação da metodologia analítica do captopril num programa de garantia de qualidade**. Florianópolis, 2002. 75f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Produção) – Programa de Pós-graduação em Engenharia de Produção, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2002.
- VENERANDA, N. Métodos analíticos exigem validação específica. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 65, p. 18-23, ano 4, set., 2004.