

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA
DETERMINAÇÃO DO CLORIDRATO DE EPINASTINA EM COMPRIMIDOS
REVESTIDOS

Dissertação apresentada por
Daniela Dal Molim Ghisleni para
obtenção do GRAU DE MESTRE
em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Profa. Dra. Elfrides Eva Scherman Schapoval

Porto Alegre, Abril de 2006.

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 28 de abril de 2006 pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Celso Figueiredo Bittencourt
Universidade Federal de Santa Maria

Prof. Dr. Helder Teixeira
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Pedro Eduardo A. Fröhlich
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

G426d Ghisleni, Daniela Dal Molim
Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para
determinação do cloridrato de epinastina em comprimidos revestidos /
Daniela Dal Molim Ghisleni – Porto Alegre: UFRGS, 2006. - xix, 119p.:
il.

Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia.
Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Cloridrato de epinastina. 2. Controle de qualidade de
medicamentos. 3. Validação: métodos de análise de fármacos. I.
Schapoval, Elfrides Eva Scherman. II. Título.

CDU: 615.2.07

Bibliotecária responsável:

Margarida Maria C. F. Ferreira, CRB10/480

Este trabalho é dedicado a minha família em especial aos meus pais, Darnez e Marli, pelo apoio, amor incondicional e incentivo em todas as etapas da minha vida.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Elfrides Eva Scherman Schapoval pelo exemplo pessoal e profissional, pela orientação, apoio, confiança e amizade.

Aos professores Martin Steppe e Tércio Oppe pela disponibilidade, atenção e auxílio prestados.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRGS pela oportunidade de aprimoramento.

Ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Controle de Qualidade (LEPCQ) pela possibilidade de realização deste trabalho.

Aos colegas do LEPCQ: Ana Rita, Andréas, Cássia, Cristiane, Diogo, Heloísa, Júlia, Juliana, Lauren, Letícia, Magda e Vanessa, pelo incentivo e amizade. Em especial à bolsista de iniciação científica Alini Lange pelo auxílio, amizade e otimismo diante da vida.

Aos colegas do LCQFar- Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico : Ana Carolina, Clésio, Leila, Lorena e Roselaine, pela atenção, auxílio, incentivo, desprendimento e amizade.

À Profa. Dra. Vera Lima e ao Cedric pelo auxílio na execução do RMN.

Ao LDG, em especial à Mariana por auxiliar na realização do DSC.

Ao LAPPS por permitir o uso dos seus equipamentos e instalações.

Às amigas Carolina, Janine, Karina, Lígia e Melissa pela amizade e constante apoio nesta etapa da minha vida.

À família Arigony pela acolhida carinhosa. Em especial ao Ricardo pelo companheirismo, afeto, carinho e atenção.

A todos aqueles que, direta e indiretamente, contribuíram para a elaboração deste trabalho.

SUMÁRIO

Lista de Figuras.....	ix
Lista de Tabelas.....	xi
Lista de Abreviaturas.....	xiii
Resumo.....	xiv
Abstract.....	xv
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS GERAIS	7
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 Aspectos Gerais	13
3.2 Anti-histamínicos	15
3.3 Métodos de análise propostos na literatura	17
3.4 Validação de Metodologia Analítica	18
4. ANÁLISE QUALITATIVA.....	21
4.1 Objetivos Específicos	23
4.2 Descrição.....	23
4.2.1 Substância Química de Referência.....	24
4.2.2 Produto Farmacêutico	24
4.3 Determinação do Ponto e da Faixa de Fusão.....	24
4.3.1 Materiais	25
4.3.2 Métodos	25
4.3.3 Resultados	26
4.3.3 Discussão	27

4.4 Ressonância Magnética Nuclear – RMN (¹H)	28
4.4.1 Materiais	28
4.4.2 Método	28
4.4.3 Resultados	28
4.4.4 Discussão	30
4.5 Espectrofotometria na Região do Infravermelho	30
4.5.1 Materiais	30
4.5.2 Método	30
4.5.3 Resultados	30
4.5.4 Discussão	32
4.6 Cromatografia em Camada Delgada	33
4.6.1 Materiais	33
4.6.2 Método	33
4.6.3 Resultados	34
4.6.4 Discussão	35
4.7 Espectrofotometria na Região do Ultravioleta - UV	36
4.7.1 Materiais	36
4.7.2 Método	36
4.7.3 Resultados	37
4.7.4 Discussão	38
4.8 Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência - CLAE	39
4.8.1 Materiais	39
4.8.2 Método	40
4.8.3 Resultados	41
4.8.4 Discussão	41
5. ANÁLISE QUANTITATIVA	43
5.1 Objetivos Específicos	45
5.2 Espectrofotometria Ultravioleta Derivada	45
5.2.1 Materiais	45

5.2.2 Método	46
5.2.2.1 Validação	46
5.2.2.1.1 Especificidade.....	46
5.2.2.1.2 Linearidade.....	48
5.2.2.1.3 Precisão	48
5.2.2.1.4 Exatidão	50
5.2.2.1.5 Limites de Detecção e de Quantificação	51
5.2.3 Resultados	52
5.2.3.1 Especificidade	52
5.2.3.2 Linearidade	54
5.2.3.3 Precisão	55
5.2.3.4 Exatidão	56
5.2.3.5 Limite de detecção e de quantificação.....	57
5.2.4 Discussão	57
5.3 Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência	59
5.3.1 Materiais	59
5.3.2 Método	60
5.3.2.1 Validação	62
5.3.2.1.1 Linearidade.....	62
5.3.2.1.2 Especificidade.....	63
5.3.2.1.3 Precisão	64
5.3.2.1.4 Exatidão	66
5.3.2.1.4.1 Cálculos para o teste de recuperação	67
5.3.2.1.5 Robustez.....	68
5.3.2.1.6 Limites de detecção e de quantificação	69
5.3.3 Resultados	69
5.3.3.1 Linearidade	70
5.3.3.2 Especificidade	72
5.3.3.3 Precisão	76
5.3.3.4 Exatidão	77
5.3.3.4 Robustez.....	78
5.3.3.5 Limites de detecção e limite de quantificação	81
5.3.4 Discussão	82

5.4 Análise estatística comparativa dos métodos.....	85
5.4.1 Resultados	85
5.4.2 Discussão	85
6. Estudo Preliminar de Estabilidade.....	87
6.1 Estabilidade Térmica.....	89
6.1.1 Materiais	89
6.1.2 Método	89
6.1.3 Resultados	90
6.1.4 Discussão	92
6.2 Fotoestabilidade e determinação da cinética de reação.....	93
6.2.1 Materiais	93
6.2.2 Método	93
6.2.3 Resultados	94
6.2.4 Discussão	98
7. DISCUSSÃO GERAL	101
8. CONCLUSÕES GERAIS	109
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	113

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Estrutura dos anti-histamínicos tricíclicos.....	3
Figura 2-	Estrutura química do cloridrato de epinastina.....	3
Figura 3-	Curva de aquecimento obtida com cloridrato de epinastina SQR em equipamento de DSC-60.....	19
Figura 4-	Espectro de RMN de próton obtido para o cloridrato de epinastina em água deuterada.....	22
Figura 5-	Espectro de absorção na região do infravermelho do cloridrato de epinastina em dispersão de brometo de potássio.....	24
Figura 6-	Representação esquemática do cromatograma obtido por cromatografia em camada delgada.....	28
Figura 7-	Perfil comparativo dos espectros de absorção na região do UV do cloridrato de epinastina SQR e dos comprimidos revestidos.....	30
Figura 8-	Cromatogramas obtidos por CLAE para o cloridrato de epinastina SQR e dos comprimidos revestidos.....	34
Figura 9-	Sobreposição dos espectros das soluções de cloridrato de epinastina SQR, dos comprimidos revestidos e da amostra simulada do placebo.....	46
Figura 10-	Sobreposição dos espectros por UV derivada de primeira ordem das soluções de cloridrato de epinastina SQR, dos comprimidos revestidos e da amostra simulada do placebo.....	46
Figura 11-	Curva padrão obtida por espectrofotometria derivada de primeira ordem.....	48
Figura 12-	Cromatogramas obtidos para avaliação da fase móvel com e sem trietilamina.....	62
Figura 13-	Curva padrão do cloridrato de epinastina obtida por CLAE.....	63
Figura 14-	Sobreposição dos cromatogramas obtidos por CLAE para avaliação da especificidade.....	64

Figura 15-	Cromatograma obtido com a solução de cloridrato de EPN após 20 horas de exposição à luz UV.....	66
Figura 16-	Curva de pureza do pico do cloridrato de EPN após 20 horas de exposição à luz UV.....	67
Figura 17-	Cromatograma obtido com a solução de cloridrato de EPN após 20 horas de contato com NaOH 0,1 N.....	67
Figura 18-	Curva de pureza do pico do cloridrato de EPN após 20 horas de contato com NaOH 0,1 N.....	68
Figura 19-	Curva de pureza do pico do cloridrato de EPN após 20 horas de contato com HCl 0,1 N.....	68
Figura 20-	Curva de pureza do pico do cloridrato de EPN após 20 horas de contato com peróxido de hidrogênio 0,3%.....	69
Figura 21-	Curva de pureza do pico do cloridrato de EPN após 20 horas em temperatura de 80 °C.....	69
Figura 22-	Cromatogramas obtidos através de modificações no pH da fase móvel.....	72
Figura 23-	Cromatogramas obtidos através de modificações na temperatura do forno.....	72
Figura 24-	Cromatogramas obtidos através de modificações nas proporções da fase móvel.....	73
Figura 25-	Cromatogramas obtidos através de modificações na coluna.....	73
Figura 26-	Cromatogramas do limite de detecção (A) e do limite de quantificação (B).....	74
Figura 27-	Sobreposição dos cromatogramas após exposição à temperatura de 80 °C em diferentes intervalos de tempo.....	85
Figura 28-	Sobreposição dos cromatogramas após exposição a radiação UV de 254 nm em diferentes intervalos de tempo.....	88
Figura 29-	Aumento da escala da Figura 28.....	88
Figura 30-	Cinética de reação de ordem zero.....	90
Figura 31-	Cinética de reação de primeira ordem.....	91
Figura 32-	Cinética de reação de segunda ordem.....	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Parâmetros de validação.....	14
Tabela 2 -	Ponto e da faixa de fusão do cloridrato de epinastina.....	20
Tabela 3 -	Principais frequências de absorção no infravermelho.....	24
Tabela 4 -	Condições cromatográficas empregadas na análise de cloridrato de epinastina por CLAE.....	33
Tabela 5 -	Composição da amostra simulada dos excipientes.....	40
Tabela 6 -	Preparo das soluções para o teste de recuperação por UV derivada de primeira ordem.....	44
Tabela 7 -	Absorvâncias obtidas na curva padrão por UV derivada de primeira ordem.....	47
Tabela 8 -	Análise de variância das absorvâncias obtidas na curva padrão por UV derivada de primeira ordem.....	48
Tabela 9 -	Apresentação dos valores experimentais obtidos por UV derivada na avaliação da precisão intradia e interdia.....	49
Tabela 10 -	Resultados obtidos na avaliação da exatidão por UV derivada de primeira ordem.....	49
Tabela 11 -	Limites de detecção de quantificação do cloridrato de epinastina por ultravioleta derivada de primeira ordem.....	50
Tabela 12 -	Métodos de análise do cloridrato de epinastina referenciados na literatura.....	54
Tabela 13 -	Parâmetros de conformidade do sistema de CLAE e recomendações.....	53
Tabela 14 -	Preparo das soluções para realização do teste de recuperação por CLAE.....	60
Tabela 15 -	Alterações nas condições de análise por CLAE para verificação da robustez do método.....	61
Tabela 16 -	Áreas absolutas de cloridrato de epinastina SQR obtidas por CLAE para determinação da curva padrão.....	64

Tabela 17- ANOVA das áreas absolutas obtidas na curva padrão do cloridrato de epinastina por CLAE.....	64
Tabela 18- Apresentação dos valores experimentais obtidos na determinação da precisão intradia e interdia por CLAE.....	70
Tabela 19- Resultados do teste de recuperação por CLAE.....	70
Tabela 20- Variações aplicadas ao método por CLAE para avaliação da robustez.....	71
Tabela 21- Teste-t: duas amostras presumindo variâncias equivalentes.....	78
Tabela 22- Apresentação dos teores de cloridrato de epinastina após submeter as amostras à temperatura de 80 °C por período de 10 dias.....	84
Tabela 23- Concentrações de cloridrato de epinastina obtidas após determinados períodos de exposição à luz UV de 254 nm.....	89

LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de Variância
CAS	Chemical Abstracts Service
CCD	Cromatografia em camada delgada
CLAE	Cromatografia a líquido de alta eficiência
e.p.m	Erro padrão da média
EPN	Epinastina
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de Quantificação
r	coeficiente de correlação linear
Rf	Fator de retenção
SQR	Substância química de referência
UV	Ultravioleta

RESUMO

“Desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação do Cloridrato de epinastina em comprimidos revestidos”

Palavras chave: cloridrato de epinastina, controle de qualidade, validação, métodos analíticos.

O cloridrato de epinastina é um agente não sedativo, antagonista H_1 da histamina, utilizado no tratamento da asma ou como anti-histamínico, comercializado no Brasil na forma farmacêutica comprimido revestido com o nome de Talerc®. Embora, seja um medicamento amplamente comercializado não há referências relativas aos métodos de análise da forma farmacêutica. Este trabalho teve como objetivos o desenvolvimento e a validação de métodos analíticos para o controle de qualidade do cloridrato de epinastina nos comprimidos revestidos, bem como a realização de estudos preliminares de estabilidade térmica e de fotoestabilidade e determinação da cinética de reação do anti-histamínico em estudo. A análise qualitativa do cloridrato de epinastina foi realizada por ressonância magnética nuclear de próton, determinação da faixa de fusão, espectrofotometria na região do infravermelho e do ultravioleta, cromatografia em camada delgada e por cromatografia a líquido de alta eficiência. Para análise quantitativa, foram validados os métodos por espectrofotometria na região do ultravioleta derivada de primeira ordem e por cromatografia a líquido de alta eficiência. A validação foi efetuada de acordo com as guias de validação disponíveis na literatura. No estudo preliminar de estabilidade térmica utilizou-se a forma farmacêutica submetida a temperatura de 80 °C por 10 dias. A fotoestabilidade foi realizada em câmara de luz ultravioleta de 254 nm por um período de 18 horas. Os métodos qualitativos foram úteis para identificação do cloridrato de epinastina. Os métodos quantitativos propostos foram validados de acordo com os parâmetros analíticos preconizados, podendo ser perfeitamente intercambiáveis. O estudo preliminar de estabilidade térmica não apresentou degradação da amostra nas condições de análise empregadas. O estudo de fotoestabilidade apresentou degradação intensa obedecendo uma cinética de reação de primeira ordem.

ABSTRACT

“Development and validation of analytic methods for the determination of epinastine hydrochloride tablets coated”

The epinastine hydrochloride is a non-sedating, histamine H₁ antagonist that is used as an anti-allergic agent or for the treatment of asthma, available in Brazil as a coated tablet named Talerc[®]. Even though, it is widely commercialized, there is no reference related to the quality control methods of its pharmaceutical dosage form. The aim of this work was the development and validation of analytical methodology for the quality control of epinastine hydrochloride in coated tablets, as well as preliminary studies of thermal and photostability and kinetic of reaction to the antihistaminic. The qualitative analysis was performed by nuclear magnetic resonance, determination of melting point range, infrared and ultraviolet spectrophotometry, thin layer chromatography and by high performance liquid chromatography. For quantitative analysis, the methods of ultraviolet derivative spectrophotometry and high performance liquid chromatography methods were validated. The validation was performed according to the validation guidances available in the literature. The pharmaceutical dosage and temperatures of 80°C for 10 days were used in the preliminary studies of thermal stability. The photostability was verified in an ultraviolet light chamber of 254 nm for a period of 18 hours. The methods employed for the qualitative analysis demonstrated to be useful for the epinastine hydrochloride identification. The quantitative methods were validated in accordance to the analytic parameters related in the validation guides, allowing perfect interchanges. The thermal stability study has not presented sample degradation in the applied analysis conditions. The photostability study demonstrated an accentuated degradation obeying a first order reaction.

KEYWORDS: epinastine hydrochloride, quality control, validation, analytical methodology.

1. INTRODUÇÃO

A histamina é um dos mediadores químicos pré-formado e armazenado nos mastócitos. Sua liberação, como resultado da interação do antígeno com anticorpos IgE sobre a superfície dos mastócitos, desempenha função central na hipersensibilidade imediata e nas respostas alérgicas. As ações da histamina sobre as células musculares lisas brônquicas e de vasos sanguíneos respondem em parte pela resposta alérgica (BROWN; ROBERTS, 2003).

Uma vez liberada a histamina pode exercer efeitos locais ou disseminados sobre os músculos lisos e glândulas. O autacóide contrai diversos músculos lisos, incluindo brônquicos e intestinais, mas induz o relaxamento intenso de outros, como o dos vasos sanguíneos. Muitos desses efeitos, como a broncoconstrição e a contração intestinal são mediados por receptores H_1 que são prontamente bloqueados por anti-histamínicos (BROWN; ROBERTS, 2003).

Os anti-histamínicos de primeira geração são muito usados e efetivos no tratamento de respostas alérgicas, febre do feno, rinite, urticária e alergias alimentares. Estes agentes também apresentam atividade sobre receptores colinérgicos, serotoninérgicos e dopaminérgicos. Os efeitos adversos centrais incluem sedação, redução das habilidades cognitivas e sonolência. Os efeitos periféricos incluem visão borrada, boca seca, espasmo muscular, ansiedade, confusão mental e, ocasionalmente, irritabilidade, tremor, taquicardia, entre outros. A separação dos efeitos de depressão do sistema nervoso central e de efeitos anticolinérgicos é observada nos anti-histamínicos de segunda geração (NELSON, 2002).

A estrutura geral de muitas classes de anti-histamínicos tricíclicos (Figura 1) apresenta dois grupos aromáticos que podem ser ligados por grupamentos adicionais de átomos, heteroátomos como enxofre ou oxigênio, ou através de ligações simples ou duplas com outra cadeia carbônica (NELSON, 2002).

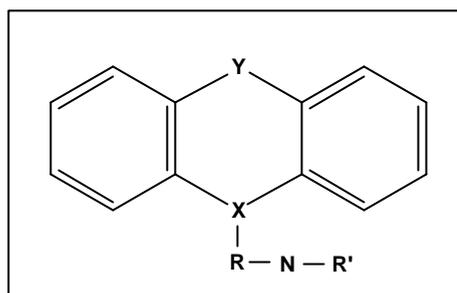


Figura 1. Estrutura geral dos anti-histamínicos tricíclicos (Adaptada de NELSON, 2002).

As letras representadas na estrutura tricíclica acima podem ser interpretadas do seguinte modo (NELSON, 2002):

- ✓ Y = C, CH, N;
- ✓ X = CH₂, S, O, NH, CH₂O, CH₂CH₂, CH=CH;
- ✓ R = 02 a 03 carbonos;
- ✓ R' = anel de cinco membros, entre outros.

O cloridrato de epinastina, anti-histamínico de segunda geração, apresenta estrutura tricíclica conforme representado na Figura 2.

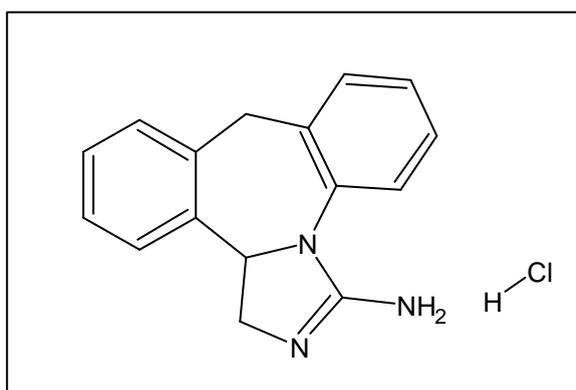


Figura 2. Estrutura química do cloridrato de epinastina.

É um agente antialérgico utilizado no tratamento da asma, que se caracteriza pela alta afinidade por receptores H₁, por ser oralmente ativo, por não apresentar efeitos sedativos centrais e nem atividade anticolinérgica

(OGISO *et al.*, 2001). Além de ser indicado em casos de patologia alérgica e de rinite alérgica (PRODUTOS, 2005).

Este medicamento é comercializado no país pela indústria Boehringer Ingelheim do Brasil Química e Farmacêutica Ltda., com o nome comercial de Talerc[®] e está disponível no mercado brasileiro nas seguintes formas farmacêuticas: xarope (frascos de 50 ml), solução oftálmica, comprimidos revestidos de 10 mg (embalagens com 10 e 30 comprimidos) e de 20 mg (embalagens com 10 comprimidos) (PRODUTOS, 2005).

Na literatura constam métodos referentes à determinação quantitativa da epinastina em fluidos biológicos por cromatografia a líquido de alta eficiência e por cromatografia a líquido de alta eficiência acoplada a espectrômetro de massas.

Apesar da relevância terapêutica deste anti-histamínico e de sua ampla comercialização no país, não foram encontrados estudos referentes aos métodos de análise, o que ressalta a importância deste trabalho.

2. OBJETIVOS GERAIS

Objetivos gerais:

- Desenvolver e validar métodos qualitativos e quantitativos para análise do cloridrato de epinastina na forma farmacêutica comprimido revestido;
- Avaliar preliminarmente a estabilidade térmica do cloridrato de epinastina;
- Determinar a cinética de degradação do fármaco a partir do estudo preliminar de fotoestabilidade.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aspectos Gerais

Em todo o mundo, cerca de 100 a 150 milhões de pessoas sofrem de asma brônquica e esse número vem aumentando gradativamente. Na Alemanha são estimados quatro milhões de asmáticos. No oeste da Europa o número de casos dobrou nos últimos 10 anos. Nos Estados Unidos o número de casos cresceu cerca de 60%, desde 1980. Há três milhões de asmáticos no Japão; na Índia este número é de cerca de 15 a 20 milhões. No Brasil, Costa Rica, Panamá, Peru e Uruguai a prevalência dos sintomas de asma na população varia de 20 a 30% (BRONCHIAL ASTHMA, 2004).

Nos Estados Unidos a rinite alérgica é um problema de saúde pública que afeta de 20 a 40 milhões de pessoas anualmente, sendo 10 a 30% dos adultos e 40% das crianças. Mais de \$6 bilhões de dólares foram gastos com a prescrição de medicamentos para o tratamento da rinite alérgica somente no ano de 2000 naquele país (ROSENWASSER, 2002).

A asma e a rinite alérgica apresentam características epidemiológicas, histológicas, fisiológicas e imunopatológicas similares, e a chave para o manejo de ambas as desordens é a prevenção e alívio dos sintomas da inflamação alérgica crônica das vias aéreas superiores e inferiores (SIMONS, 2003).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) sugere, desde 1999, o desenvolvimento de estratégias para a prevenção da asma brônquica a partir do tratamento da rinite alérgica (BRONCHIAL ASTHMA, 2004).

A hipersensibilidade do tipo I é também denominada anafilaxia, atopia ou alergia. As substâncias que provocam esse tipo de hipersensibilidade são denominadas alérgenos (SHARON, 2000).

Um pré-requisito para uma reação de hipersensibilidade tipo I é que o indivíduo tenha produzido um anticorpo IgE quando entrou em contato com o

antígeno pela primeira vez, e assim se torna sensibilizado ao mesmo. A IgE difere de outros isotipos de anticorpo por estar localizada, predominantemente, nos tecidos; onde está ligada aos mastócitos por receptores de superfície de alta afinidade, conhecidos como FcεRI .

O FcεRI é expresso constitutivamente pelos mastócitos e basófilos e, também, por eosinófilos depois de terem sido ativados por citocinas. Após uma resposta primária de IgE ter se encerrado e o antígeno ter sido eliminado pelos métodos usuais, todas as moléculas de IgE específicas para o antígeno que não o encontraram são ligadas por suas regiões Fc ao FcεRI nessas células.

Os complexos estáveis de IgE e de FcεRI fornecem efetivamente aos mastócitos, basófilos e eosinófilos receptores específicos ao antígeno. Todas essas células têm grânulos contendo mediadores inflamatórios pré-formados. Quando o antígeno for encontrado novamente, irá ligar-se aos receptores e ativar as células a liberarem seus mediadores inflamatórios. A degranulação inicial é seguida pela síntese induzida de uma maior variedade de mediadores.

Os mastócitos residem nas mucosas e nos tecidos epiteliais que revestem as superfícies corporais e servem para alertar o sistema imune ao trauma e à infecção locais. Os grânulos dos mastócitos contêm principalmente histamina, heparina, fator de necrose tumoral-α (TNF- α), sulfato de condroitina, proteases neutras e outras enzimas degradativas e mediadores inflamatórios (PARHAM, 2001).

A histamina é uma molécula hidrofílica envolvendo um anel imidazólico e um grupamento amino conectado por dois grupamentos metileno. A forma farmacologicamente ativa em todos os seus receptores é o tautômero H (BROWN; ROBERTS, 2003).

A histamina exerce uma variedade de efeitos fisiológicos por meio de três tipos de receptores – H₁, H₂ e H₃ – que foram definidos em diferentes tipos celulares. As reações alérgicas agudas envolvem a ligação da histamina ao receptor H₁ nas células do músculo liso das proximidades e nas células endoteliais dos vasos sanguíneos (PARHAM, 2001).

O estímulo do receptor H_1 nas células endoteliais induz a permeabilidade dos vasos e a entrada de outras células e moléculas no tecido contendo o alérgeno, causando a inflamação. As células do músculo liso são induzidas a se contrair no momento da ligação à histamina, o que produz, por exemplo, a constrição das vias aéreas; a histamina também age no revestimento epitelial da mucosa, induzindo a secreção aumentada de muco (PARHAM, 2001).

As reações de hipersensibilidade do tipo I ocorrem quando o material antigênico que não é, em si, nocivo desencadeia a produção de anticorpos do tipo IgE, que se fixam nos mastócitos e, no pulmão, aos eosinófilos. O contato subsequente com o material provoca a liberação de histamina, do fator de ativação das plaquetas, de eucosanóides e de citocinas pelos mastócitos. Os efeitos podem ser localizados, limitando-se ao nariz (febre do feno), à árvore brônquica (fase inicial da asma), à pele (urticária) ou ao trato gastrintestinal. Em alguns casos, a reação pode ocorrer de modo exacerbado causando choque alérgico (RANG; DALE, 2001). Em decorrência disso, os anti-histamínicos são medicamentos importantes e amplamente utilizados no tratamento de doenças alérgicas (INAGAKI; NAGAI, 2001).

3.2 Anti-histamínicos

Os anti-histamínicos encontram-se divididos em duas categorias, os de primeira e os de segunda geração.

A primeira geração de anti-histamínicos inclui a bromofeniramina, a clorfeniramina e a difenidramina. Estes agentes, mais antigos, aliviam a congestão nasal, a rinorréia e a rinite alérgica, mas atravessam a barreira hematoencefálica e estão associados a efeitos adversos como sonolência (ROSENWASSER, 2002).

Os anti-histamínicos de segunda geração apresentam estrutura química variada, mas propriedades farmacológicas de efeito, principalmente, periférico. Estes agentes apresentam efeito antagônico e seletivo aos receptores

periféricos H₁, e reduzida atividade anticolinérgica. Além disso, possuem baixa afinidade por receptores serotoninérgicos e adrenérgicos, e têm efeitos limitados sobre o sistema nervoso central, uma vez que não ultrapassam significativamente a barreira hematoencefálica (NELSON, 2002).

Esta classe de medicamentos foi desenvolvida a partir da descoberta da terfenadina, e subsequente introdução do astemizol, da loratadina e da cetirizina (GRANT *et al.*, 1999). Além destes, podem ser citados a ebastina, a fexofenadina, a desloratadina e o cloridrato de epinastina.

Nos últimos anos, casos de arritmia cardíaca e de morte foram relatados durante a administração de terfenadina, especialmente quando o metabolismo do medicamento era retardado a partir do uso de outros medicamentos, com conhecida capacidade de inibir enzimas do citocromo P₄₅₀ hepático. Efeitos adversos similares foram relatados com a administração do astemizol (GRANT *et al.*, 1999), o que resultou na retirada destes do mercado.

A epinastina apresenta ação seletiva sobre os receptores H₁ periféricos bloqueando-os de modo reversível, inibe a liberação de histamina, além de captar cálcio (COLIN *et al.*, 2004). Com base nas características físico-químicas (hidrofilia, carga catiônica no pH fisiológico), observa-se que a epinastina não atravessa a barreira hematoencefálica, o que demonstra a incapacidade de produzir efeitos sobre o sistema nervoso central (SARASHINA *et al.*, 2004).

De acordo com estudo duplo cego cruzado realizado por GRANT e colaboradores (1999) para comparação entre os seguintes anti-histamínicos versus placebo: cetirizina, ebastina, epinastina, fexofenadina, terfenadina e loratadina; observou-se que a epinastina apresenta ação antialérgica mais rápida quando comparada aos demais tratamentos (de meia a uma hora após administração de uma dose oral única de 20 mg que persiste por 24 horas).

Estudos referentes à farmacocinética e à farmacodinâmica do fármaco demonstram que sua absorção via oral é rápida e uniforme, além de ser efetivo

na prevenção de reações alérgicas frente a estímulos externos (asma alérgica), efetivo em quadros alérgicos já estabelecidos, além de evitar a cronicidade dos quadros alérgicos já existentes (COLIN *et al.*, 2003).

3.3 Métodos de análise propostos na literatura

Na literatura não constam métodos de análise do fármaco. Contudo, existem artigos que relatam a determinação da epinastina em fluidos biológicos.

A determinação quantitativa da epinastina em plasma, proposta por OHTANI e colaboradores (1996), por cromatografia a líquido de alta eficiência utilizou o seguinte sistema cromatográfico:

- ✓ Detector: ultravioleta (UV) a 220 nm;
- ✓ Fase móvel: 0,3% de trietilamina (v/v) (pH ajustado a 4,5 com ácido fosfórico): metanol - 63:36 (v/v);
- ✓ Coluna: C18 em fase reversa;
- ✓ Fluxo: 1,3 ml/minuto;
- ✓ Padrão interno: difenidol.

O trabalho desenvolvido por OGISO e colaboradores (2001) propõe método semelhante ao descrito anteriormente em relação ao mesmo fluido biológico. A detecção é realizada por UV em comprimento de onda de 207 nm, além de pequenas modificações nas proporções da fase móvel utilizada: trietilamina 0,3% (v/v) (pH ajustado a 4,5 com ácido fosfórico): metanol - 60:40 (v/v).

A ausência de métodos destinados à determinação do cloridrato de epinastina na forma farmacêutica comprimido torna o desenvolvimento e a validação destes de grande importância.

3.4 Validação de Metodologia Analítica

A harmonização dos requisitos para validação de procedimentos analíticos foi realizada pelo International Conference on the Harmonization (ICH) em duas guias: Q2A, a qual apresenta uma discussão a respeito das características que devem ser consideradas durante a validação de processos analíticos; e a Q2B, que complementa o guia anteriormente citada e inclui dados experimentais e estatísticos (ICH, 1996).

O objetivo de uma validação é demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semiquantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos (BRASIL, 2003; USP 29, 2006).

De acordo com a bibliografia consultada (BRASIL, 2003; USP 29, 2006; ICH, 1996) nem todos os parâmetros analíticos precisam ser avaliados para validar um método analítico; a escolha destes vai depender do tipo de método e de sua aplicação, conforme especificado na Tabela 1.

Tabela 1. Parâmetros de Validação a serem testados de acordo com o propósito dos métodos propostos.

Parâmetro de Validação	TIPO DE ENSAIO				
	I Método p/ quantificação de matéria-prima e/ou substâncias ativas em produtos acabados	II Métodos para determinação de impurezas em matérias-primas ou de compostos de degradação em produtos acabados		III Métodos para testar características de desempenho	IV Testes de identificação
		Ensaio quantitativo	Ensaio limite		
Exatidão	✓	✓	x	x	x
Precisão	✓	✓	x	✓	x
Especificidade	✓	✓	✓	x	✓
Limite de detecção	x	x	✓	x	x
Limite de quantificação	x	✓	x	x	x
Linearidade	✓	✓	x	x	x
Intervalo de linearidade	✓	✓	x	x	x

✓ Precisa de comprovação

x Não precisa de comprovação

Referências: ICH, 1996; USP 29, 2006; BRASIL, 2003.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)