



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**



**CARACTERIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS  
ANALÍTICOS DO ORNIDAZOL**

**Monica Felts de La Roca**

**Recife**  
**2007**

# **Livros Grátis**

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

Milhares de livros grátis para download.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**CARACTERIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS  
ANALÍTICOS DO ORNIDAZOL**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de Concentração: Produção e Controle de Qualidade de Medicamentos

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

**Monica Felts de La Roca**

**Recife  
2007**

## La Roca, Mônica Felts de

Caracterização e desenvolvimento de métodos analíticos do ornidazol / Mônica Felts de La Roca. - Recife: O Autor, 2007.

xv, 87 folhas : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2007.

Inclui bibliografia.

1. Ornidazol – Métodos analíticos. 2. Ornidazol – Caracterização térmica. I. Título.

615.011  
615.190 1

CDU (2.ed.)  
CDD (20.ed.)

UFPE  
CCS2007-112

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**CARACTERIZAÇÃO E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODOS  
ANALÍTICOS DO ORNIDAZOL**

**BANCA EXAMINADORA:**

**Membro Externo Titular**

Prof. Dr. Eduardo José Alécio de Oliveira - CEFETPE

**Membros Internos Titulares**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Miracy Muniz de Albuquerque - UFPE

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto - UFPE

**Membros Suplentes**

Interno: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Nelly Caetano Pisciotano - UFPE

Externo: Prof. Dr. Fabio Santos de Souza - UFPB

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO****REITOR**

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

**VICE-REITOR**

Prof. Dr. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

**PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

**VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Prof. Dr. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

**CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Jane Sheila Higinio

**VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof. Samuel Daniel de Souza Filho

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Beate Saegesser Santos



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FARMACÊUTICAS**

Recife, 15 de junho de 2007.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 15 de junho de 2007 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

**PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto** (Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura: \_\_\_\_\_

**EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Miracy Muniz de Albuquerque** (Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: \_\_\_\_\_

**EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Eduardo José Alcício de Oliveira** (Centro Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco - CEFETE).

Assinatura: \_\_\_\_\_

**Aos dois homens de minha vida,  
Ricardo e Lamartine,  
com amor.**



## AGRADECIMENTOS

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco** pela oportunidade da realização desta etapa de minha formação acadêmica.

Ao meu orientador **Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto** por ter contribuído de forma ímpar em todos os aspectos de minha vida, minha eterna gratidão.

Ao **Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - LTM da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE** pela oportunidade e de realização deste trabalho e a **todos os seus integrantes**.

A **APSEN Farmacêutica S/A** pela parceria e apoio no desenvolvimento do projeto.

A **Valéria dos Santos Cozzolino Yugue, Javier Antonio Andaur Barraza, Elisia Ferreira, Juliana Varella, Bárbara Maria Flores Ferreira, Estevam Burlim Junior, Thaís de Oliveira e Emerson Salles**, colegas e amigos do **Setor de Desenvolvimento Farmacotécnico da Apsen Farmacêutica S/A**.

Aos colegas e amigos de equipe **Keyla Emanuelle Ramos da Silva, José Lamartine Soares Sobrinho, Severino Grangeiro Junior, Flávia Patrícia Moraes de Medeiros, Jaffe José Lima Xavier e Jeckson Luiz da Silva** do LTM, pela cumplicidade e empenho no desenvolvimento deste trabalho.

Ao **Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos - LCQPF da Universidade Federal da Paraíba – UFPB**, na figura do **Prof. Dr. Rui Oliveira Macedo, Prof. Dr. Fábio Santos de Souza, M. Sc. Pablo Queiroz Lopes e Lidiane Pinto Correia**, pela oportunidade e auxílio concedidos na realização das análises térmicas deste trabalho.

Ao **Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos – NCQMC** da **Universidade Federal de Pernambuco - UFPE**, na figura da **Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Miracy Muniz de Albuquerque** e do **Farmacêutico M. Sc. Severino Grangeiro Junior**.

Ao meu pai **Ricardo Felts de La Roca** por ser meu incansável e eterno incentivador. Aos meus irmãos **Fernanda Felts de La Roca** e **Armando Felts de La Roca** pela oportunidade de compartilhar a vida ao lado de pessoas tão incríveis, e a todos os meus familiares.

Ao meu noivo **José Lamartine Soares Sobrinho** por ter me apresentado a pesquisa científica e me fornecido bases sólidas de inspiração.

Aos **amigos** que colecionei em cada etapa de minha vida, meu muito obrigado por cada sorriso, abraço e palavra que confidenciamos.

A **todos** aqueles que de forma direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>2</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>5</b>
2.1 Objetivo Geral .....	5
2.2 Objetivos Específicos .....	5
<b>Capítulo I.....</b>	<b>6</b>
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>6</b>
3.1 Artigo I: Utilização Terapêutica do Ornidazol no Tratamento e Profilaxia de Doenças .....	7
3.2 Artigo II: Desenvolvimento e Validação de Método Analítico: Passo Importante na Produção de Medicamentos.....	21
<b>Capítulo II.....</b>	<b>31</b>
<b>4 ANÁLISE TÉRMICA .....</b>	<b>31</b>
4.1 Artigo III: Caracterização Térmica da Matéria-Prima Ornidazol .....	32
4.2 Artigo IV: Estudo de Compatibilidade do Ornidazol, Misturas Binárias e Produto Acabado Empregando-se Análise Térmica .....	43
<b>Capítulo III.....</b>	<b>53</b>
<b>5 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS.....</b>	<b>53</b>
5.1 Artigo V: Desenvolvimento de Método Cromatográfico para Controle de Qualidade do Ornidazol Matéria-Prima.....	54
5.2 Artigo VI: Determinação de Ornidazol em Comprimidos por Espectrofotometria UV-Visível: Desenvolvimento e Validação de Método Analítico .....	65
5.3 Artigo VII: Desenvolvimento e Validação do Teste de Dissolução do Ornidazol Comprimido.....	75
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>83</b>
<b>7 PERSPECTIVAS.....</b>	<b>84</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>86</b>

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

USP	United States Pharmacopeia
RMN-H <sup>1</sup>	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
IV	Infravermelho
TG	Termogravimetria
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória
DTA	Análise Térmica Diferencial
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
ESPECTRO	Espectrofotometria
UV-VÍS	Ultravioleta-Visível
BV	Balão Volumétrico
RZ	Razão
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
MS	Ministério da Saúde
SQC	Substância Química Correlacionada
BPF	Boas Práticas de Fabricação
BPFC	Boas Práticas de Fabricação e Controle
BPL	Boas Práticas Laboratoriais
RPM	Rotações por Minuto

**LISTA DE SÍMBOLOS**

%	Porcentagem
°C	Graus Celsius
mg	Miligrama
±	Mais ou menos
mL	Mililitro
®	Marca registrada
mAU	Miliunidades de absorbância
mL.min <sup>-1</sup>	Mililitro por minuto
kJ.mol <sup>-1</sup>	Quilojoule por mol
ΔH	Variação de entalpia
nm	Nanômetros
J.g <sup>-1</sup>	Joule por grama
°C.min <sup>-1</sup>	Graus Celsius por minuto
Ea	Energia cinética
A	Fator de frequência
n	Ordem da reação
K	Constante de velocidade
mg.kg <sup>-1</sup>	Miligrama por Quilo
μm	Micrometro
μL	Microlitro

## LISTA DE FIGURAS

### Artigo III:

Figura 1. Formula estrutural do ornidazol.....	33
Figura 2: Equação de Vant' Hoff .....	34
Figura 3. Curvas de DTA do padrão de trabalho e matérias-primas do fármaco ornidazol oriundas de diferentes fornecedores. ....	36
Figura 4. Curvas de TG do padrão de trabalho e matérias-primas do fármaco ornidazol oriundas de diferentes fornecedores. ....	37
Figura 5. Etapas do processo de fusão e decomposição do fármaco ornidazol.....	38
Figura 6. Perfil termogravimétrico do ornidazol matéria-prima dos fornecedores A, B e C, nas razões de aquecimento de 10, 15 e 20°C.min <sup>-1</sup> . ....	39

### Artigo IV:

Figura 1. Formula estrutural do ornidazol.....	44
Figura 2. Curvas de DTA e TG do ornidazol .....	46
Figura 3. Curvas de DTA dos excipientes estudados.....	47
Figura 4. Curvas de TG dos excipientes estudados .....	47
Figura 5. Curvas de DTA do fármaco ornidazol e respectivas misturas binárias .....	49

### Artigo V:

Figura 1. Cromatograma do ornidazol matéria-prima, fornecedor A, com escala extrapolada em 4 mAU e tempo de corrida de 20 minutos.....	59
Figura 2. Cromatograma do ornidazol matéria-prima, fornecedor B, com escala extrapolada em 4 mAU e tempo de corrida de 20 minutos.....	59
Figura 3. Cromatograma do ornidazol matéria-prima, fornecedor C, com escala extrapolada em 4 mAU e tempo de corrida de 20 minutos.....	60
Figura 4. Cromatograma do ornidazol matéria-prima, fornecedor A, com escala de 1200 mAU e tempo de corrida de 20 minutos.....	61

### Artigo VI:

Figura 1. Varredura espectrofotométrica do ornidazol em diferentes misturas de solventes...	69
---------------------------------------------------------------------------------------------	----

### Artigo VII:

Figura 1. Perfil de Dissolução do Ornidazol em Diferentes Meios de Dissolução .....	78
Figura 2. Perfil de Dissolução do Ornidazol em Diferentes Aparatos e Rotações.....	79

**LISTA DE TABELAS****Artigo III:**

Tabela 1. Correlação entre as Médias dos Picos de Fusão e Decomposição do Ornidazol Matéria-Prima.....	36
Tabela 2. Cinética de Decomposição Térmico do Fármaco Ornidazol.....	38
Tabela 3. Determinação do teor de ornidazol.....	41

**Artigo IV:**

Tabela 1. Parâmetros calorimétricos do ornidazol.....	48
Tabela 2. Parâmetros calorimétricos do ornidazol produto acabado.....	50

**Artigo VII:**

Tabela 1. Porcentagem Dissolvida do Ornidazol em Diferentes Meios de Dissolução .....	77
Tabela 2. Porcentagem Dissolvida do Ornidazol em Diferentes Aparatos e Rotações.....	79
Tabela 3. Perfil de Dissolução do Ornidazol Com e Sem Filtro .....	80
Tabela 4. Estudo de estabilidade do fármaco no meio de dissolução.....	80

## RESUMO

Os fármacos nitroimidazóis atuam inibindo a síntese de DNA microbiano e atualmente o metronidazol é o fármaco de escolha desta classe. O ornidazol, derivado dos 5-nitroimidazólicos, apresenta vantagens terapêuticas em relação ao metronidazol, por apresentar um maior tempo de meia-vida, acarretando na redução da frequência de dosagem e na duração do tratamento na maioria das infecções clínicas de maior relevância. O ornidazol pode ser sintetizado a partir de diferentes rotas sintéticas, podendo apresentar diferentes substâncias químicas correlacionadas (SQC) também conhecidas como impurezas. Este trabalho teve como objetivo a caracterização térmica do fármaco e o desenvolvimento e validação de métodos analíticos aplicados ao controle de qualidade da matéria-prima e forma farmacêutica comprimido revestido. Três matérias-primas de diferentes fornecedores foram analisadas por meio das técnicas espectrofotométricas, térmicas e cromatográficas. Desenvolveu-se e validou-se dois métodos analíticos quantitativos aplicados ao doseamento do ornidazol, sendo o primeiro um método analítico capaz de quantificar simultaneamente o ornidazol matéria-prima e a suas SQC por meio da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e o segundo destina-se a análise do produto final por meio da Espectrofotometria no Ultravioleta-Visível (ESPECTRO UV-VÍS). Um terceiro método analítico de performance foi desenvolvido e validado para a realização do teste de dissolução da forma farmacêutica. Por meio das técnicas termoanalíticas pôde-se comprovar a pureza das matérias-primas, investigar a cinética de degradação do fármaco ornidazol e realizar um estudo de compatibilidade entre o fármaco selecionado e excipientes consagrados na prática farmacêutica, por meio da caracterização térmica do fármaco, excipientes, misturas binárias e forma farmacêutica final. As matérias-primas dos três fornecedores apresentaram qualidade adequada e os métodos analíticos desenvolvidos e validados apresentaram resultados satisfatórios para todos os quesitos avaliados. Diante dos resultados alcançados, pode-se garantir a obtenção da forma farmacêutica comprimido revestido à base do fármaco ornidazol com qualidade e confiabilidade comprovadas, requisitos fundamentais no desenvolvimento de um medicamento segundo as Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPFC), preconizados pelo órgão regulatório (ANVISA-MS).

**Palavras-chave:** Ornidazol, Controle de Qualidade, Caracterização Térmica, Desenvolvimento, Validação, Métodos Analíticos



## ABSTRACT

The nitroimidazoles drugs acts to inhibit the synthesis of microbial DNA, this class presents the metronidazole as drug of choice. The ornidazole, derivative of the 5-nitroimidazoles, presents therapeutic advantages in relation to metronidazole, by presenting a bigger half-life, causing the reduction in the dosage frequency and the duration of the treatment in the majority of the clinical infections of greater relevance. The ornidazole can be synthesized by different synthesis routes, possibly presenting different correlated chemical substances (CCS) also known as impurities. This work aimed the thermal characterization of the drug and the development and validation of analytical methods applied on the quality control of raw-material and pharmaceutical form film-coated tablet. Three raw-materials of different suppliers had been analysed by spectrophotometric, thermoanalytical and chromatographic techniques. Two quantitative analytical methods were developed and validated for ornidazole's assay, the first being an analytical method able to quantify simultaneously the ornidazole and their CCS by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) and the second having propose of analyses the final product by Ultraviolet-Visible Spectrophotometry (UV-VIS). One third analytical method of performance was developed and validated for the accomplishment of the pharmaceutical form dissolution test. By the thermal methods was possible to prove the ornidazole raw-material purity, investigate the ornidazole's kinetic of degradation and carry out a compatibility test between the drug ornidazole and consecrated excipients in the practical pharmaceutical, by the characterization of the drug, excipients, binary mixture and final pharmaceutical form. The raw-materials from the three suppliers had presented adequate quality and the developed and validated analytical methods had shown satisfactory results for all the evaluated parameters. Ahead of the obtained results, the attainment of the pharmaceutical form tablet base of ornidazole with proven quality and trustworthiness can be guaranteed, fundamental requisites for the medicine manufacture according to the Good Manufacturing Practice (GMP), praised for the regulatorie agency (ANVISA-HM).

**Key-words:** Ornidazole, Quality Control, Thermal Characterization, Development, Validation, Analytical Methods.

# Introdução

## 1 INTRODUÇÃO

O fármaco ornidazol, derivado dos 5-nitroimidazólicos, foi introduzido na terapêutica no ano de 1974 para o tratamento de *Trichomonas vaginalis*. Este fármaco apresenta propriedades antiprotozoária e antimicrobiana frente a bactérias anaeróbicas (ÖZKAN; SENTURK; BIRYOL, 1997; WANG et al., 2004). O ornidazol apresenta atividade terapêutica similar ao metronidazol, contudo possui um maior tempo de meia-vida (12-14h) em relação ao metronidazol (6-8h), proporcionando uma vantagem terapêutica e consequentemente reduzindo a frequência de dosagem e a duração do tratamento na maioria das infecções clínicas de maior relevância (SINGH et al., 2003).

Atualmente o ornidazol é comercializado principalmente em países dos continentes asiático e europeu. Sua atuação clínica tem sido registrada com sucesso por meio de diversas publicações científicas devido ao fato deste apresentar vantagens terapêuticas em relação a outros fármacos utilizados na terapêutica atual. Deste modo o ornidazol é considerado um fármaco de interesse para ser adicionado ao arsenal terapêutico disponibilizado no mercado brasileiro (INCEBOZ; INCEBOZ; OZTURK, 2004).

O ornidazol é comercializado internacionalmente em diferentes formas farmacêuticas, incluindo comprimidos, soluções injetáveis, suspensões, pessários vaginais, supositórios, cápsulas gelatinosas duras e géis vaginais (SINGH et al., 2003).

A determinação das propriedades físicas e químicas fundamentais da molécula do fármaco e outras propriedades derivadas do fármaco é vital para o processo de desenvolvimento de uma forma farmacêutica. Estas informações ditam muitos dos eventos subseqüentes e das abordagens a serem seguidas na etapa de pré-formulação (FLORENCE; ATTWOOD, 2003; WELLS, 2005).

Para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica faz-se necessário métodos analíticos validados para a análise da matéria-prima e produto acabado, pois a qualidade da matéria-prima influencia diretamente à qualidade do produto final, que por sua vez também

pode ter sua qualidade influenciada pelo processo produtivo da forma farmacêutica (BRASIL, 2003a).

Por não ser um fármaco farmacopéico há necessidade de se desenvolver e validar métodos analíticos para a análise do medicamento, atendendo as normas da legislação Brasileira, garantindo assim confiabilidade nos resultados obtidos por meio dos métodos em questão, por exames e fornecimento de evidências objetivas de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos. A indústria que apresentar o interesse em comercializar o produto no território nacional terá que dispor de tais métodos analíticos para o controle deste medicamento (BRASIL, 2003b; SOARES SOBRINHO et al., 2005).

# Objetivos

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

- Caracterização térmica, desenvolvimento e validação de métodos analíticos aplicados ao controle de qualidade do ornidazol matéria-prima e forma farmacêutica comprimido revestido.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Utilização das técnicas termoanalíticas, Análise Térmica Diferencial (DTA), Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) e Termogravimetria (TG) para a caracterização térmica, determinação da cinética de decomposição e quantificação da pureza do fármaco.
- Utilização das técnicas termoanalíticas para a determinação da compatibilidade físico-química entre o fármaco ornidazol e excipientes consagrados na prática farmacêutica por meio da caracterização térmica do fármaco, excipientes, misturas-binárias e forma farmacêutica final;
- Desenvolvimento e validação de método analítico aplicado ao doseamento do ornidazol matéria-prima e suas substâncias químicas correlacionadas (SQC) simultaneamente, por meio da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- Desenvolvimento e validação de método analítico aplicado ao doseamento da forma farmacêutica comprimido revestido à base de ornidazol por meio da técnica de Espectrofotometria no Ultravioleta-Visível (ESPECTRO UV-VÍS);
- Desenvolvimento e validação de método analítico aplicado ao teste de dissolução da forma farmacêutica comprimido revestido à base de ornidazol.

# Capítulo I

## 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 3.1 Artigo I: **Utilização Terapêutica do Ornidazol no Tratamento e Profilaxia de Doenças**

*Artigo a ser submetido*

### 3.2 Artigo II: **Desenvolvimento e Validação de Método Analítico: Passo Importante na Produção de Medicamentos**

*Artigo submetido à Revista Brasileira de Farmácia*

### 3.1 Artigo I: **Utilização Terapêutica do Ornidazol no Tratamento e Profilaxia de Doenças**

Mônica Felts de La Roca, José Lamartine Soares Sobrinho, Keyla Emanuelle Ramos da Silva,  
Pedro José Rolim Neto\*.

Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - LTM - UFPE

#### **Resumo**

O fármaco ornidazol, derivado dos 5-nitroimidazólicos, possui estrutura molecular e ação farmacológica similar ao metronidazol, considerado como fármaco de escolha da classe, contudo o ornidazol apresenta vantagens terapêuticas em relação ao metronidazol, por apresentar um maior tempo de meia vida, sendo este de 12-14h e 6-8h, respectivamente, acarretando na redução da frequência de dosagem e duração do tratamento na maioria das infecções clínicas de maior relevância. Diversas publicações científicas apontam à eficácia clínica do ornidazol por meio de sua administração na forma de monoterapia ou associado a outros fármacos para o tratamento e a profilaxia de diversas doenças que acometem atualmente a sociedade em diferentes níveis. Muitas destas publicações comparam a eficácia do ornidazol a outros fármacos utilizados na terapêutica atual e estas apontam o ornidazol como sendo mais efetivo. Até os dias atuais o ornidazol não estava disponível para a comercialização em território nacional e esta revisão crítica de sua utilização terapêutica visa apontar as vantagens e os benefícios da introdução deste fármaco no mercado nacional.

**Palavras-Chave:** Ornidazol, Infecções, Protozoários, Bactérias anaeróbias, Eficácia Terapêutica.

---

\* Endereço para Correspondência: Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM. Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco. Av Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária, Recife – PE. 50740-521. Tel/Fax (81) 3272-1383. E-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br



## Introdução

Os fármacos nitroimidazóis atuam inibindo a síntese de DNA microbiano através da redução do seu grupo nitro a um grupo amino mais reativo, capaz de atacar o DNA microbiano e inibir uma futura síntese, ocasionado a degradação do DNA existente (ÖZKAN; SENTURK; BIRYOL; 1997; SINGH et al., 2003).

Esta classe apresenta o metronidazol como fármaco de escolha. O ornidazol, derivado dos 5-nitroimidazólicos, apresenta estrutura molecular e ação farmacológica similar ao metronidazol, contudo apresenta vantagens terapêuticas em relação ao metronidazol, por apresentar um maior tempo de meia vida, sendo este de 12-14h e 6-8h, respectivamente, acarretando na redução da frequência de dosagem e duração do tratamento na maioria das infecções clínicas de maior relevância (ROSSIGNOL; MAISONNEUVE; CHO, 1984).

O ornidazol foi sintetizado no ano de 1966 e introduzido na terapêutica em 1974 para o tratamento de *Trichomonas vaginalis* (HOFFER; GRUNBERG, 1974). O fármaco possui propriedades antiprotozoária, frente a *Trichomonas vaginalis*, *Entamoeba histolytica*, e *Giardia lamblia*, e antimicrobiana frente a bactérias anaeróbias, como *Peptostreptococcus* sp, *Clostridium difficile*, *Clostridium* sp, *Bacteróides fragilis*, *Preovotella* sp, a *Porphyromonas* sp, *Fusobacterium* sp, *Actinomycetes*, *Propionibacterium* sp, e a *Eubacterium* sp. Sua atividade contra certos fungos também está relatada na literatura científica (ATTISSO, 1987; AYDOGAN, 2006; GIAMARELLOU et al., 1982; ICENBOZ; ICENBOZ; OZTURK, 2004; MAJEWSKA et al., 1991; MUNOZ; CASTELLA; GUTIERREZ, 1998; RAY et al., 1998; RYU et al., 2001; SINGH et al., 2003; WERNER; KUCHENBECKER; HAMMANN, 1983; WÜST, 1977).

## Material e Métodos

Utilizou-se para a redação da revisão bibliográfica os bancos de dados eletrônicos ScienceDirect, Scopus, Scirus, PubMed/Medline e Bireme. Foram selecionados artigos científicos publicados desde a descoberta do fármaco aos dias atuais. Foram selecionados todos os tipos de artigos cuja abordagem fosse a utilização terapêutica do ornidazol direta ou indiretamente por meio de ensaios *in vitro* ou/e *in vivo*. Os resultados da busca eletrônica foram expandidos com busca entre as referências bibliográficas dos artigos selecionados.

## Resultados e Discussão

### Tratamento Terapêutico com Monoterapia

#### Tricomoniase

O protozoário *Trichomonas vaginalis* é o agente etiológico da tricomoníase, a doença sexualmente transmissível não viral mais comum no mundo. Estima-se em 170 milhões os casos de tricomoníase no mundo anualmente em pessoas entre 15 e 49 anos, com a maioria (92%) ocorrendo em mulheres. A infecção apresenta uma ampla variedade de manifestações clínicas, desde quadro assintomático até severa vaginite (MACIEL; TASCA; DE CARLI, 2004).

Icenboz, Icenboz e Ozturk (2004) compararam a eficácia do ornidazol frente a outros agentes terapêuticos utilizados contra trofozoítas de *Trichomonas vaginalis*, o ornidazol apresentou-se mais efetivo *in vitro* do que o metronidazol e a ciprofloxacina.

Khrianin e Reshetnikov (2006) avaliaram a eficácia clínica e microbiológica do ornidazol e do metronidazol no tratamento da tricomoníase no trato urogenital masculino. O estudo utilizou 427 pacientes e estes foram divididos em dois grupos e randomizados para receber doses usuais de ornidazol e metronidazol, como monoterapia. O ornidazol apresentou-se mais efetivo e seguro do que o metronidazol no tratamento da tricomoníase urogenital masculina, por apresentar uma eficácia clínica de 94,5% para o ornidazol em relação a 57,6% para o metronidazol, uma eficácia microbiológica de 98,2% em relação a 77,1% e a presença de efeitos colaterais em 3,7% dos pacientes em relação a 59%.

Para o tratamento da tricomoníase, uma única dose de 1,5 g deve ser administrada oralmente ou uma dose de 0,5 g deve ser administrada por via vaginal. A administração oral de 0,5 g do ornidazol duas vezes por dia, durante 5 dias, também pode ser utilizada. Parceiros sexuais devem ser tratados concomitantemente. O tratamento infantil se faz através da administração oral de uma dose única de 25 mg.kg<sup>-1</sup> (CHUNGE, 1992; ROSSIGNOL; MAISONNEUVE; CHO, 1984; SINGH et al., 2003)

#### Vaginose bacteriana

A vaginose bacteriana representa o distúrbio ginecológico mundialmente mais difundido. Sua prevalência é de 11 a 48% em mulheres em idade fértil (TOLOSA et al., 2006). Constitui-se de infecção polimicrobiana, primariamente anaeróbia, sendo *Gardnerella*

*vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, espécies de *Mobiluncus* e *Bacteróides* os principais microorganismos envolvidos (AMORIM; SANTOS, 2003).

O ornidazol é considerado um fármaco eficaz e seguro para o tratamento da vaginose bacteriana e infecções causadas por bactérias anaeróbias. O ornidazol é administrado por infusão intravenosa, com dose inicial de 0,5 a 1,0 g, seguido pela administração de uma dose diária de 1,0 ou 0,5 g duas vezes ao dia durante 5 a 10 dias. A terapêutica oral com a utilização de 0,5 g a cada 12 horas deve ser instituída assim que possível. Para crianças a dose administrada é de 10 mg.kg<sup>-1</sup> a cada 12 horas durante 5 a 10 dias (SARAGLOÇU et al., 1998; SINGH et al., 2003).

### Amebíase

Amebíase, cujo agente etiológico é a *Entamoeba histolytica*, é uma infecção protozoária com ou sem manifestações clínicas. Segundo Lasserre (1979) a análise de 207 casos de amebíase tratados com o ornidazol demonstrou uma taxa de sucesso, clínica e parasitológica de 98,5%. Em uma série de 30 casos de abscesso amebiano do fígado, os pesquisadores obtiveram uma taxa de cura de 96,7% com tratamento dose única de ornidazol de 2,0 g, associado com a aspiração regular do abscesso. Dos estudos comparativos entre o metronidazol, o tinidazol e o ornidazol, os últimos dois compostos apresentaram uma eficácia superior no tratamento da amebíase intestinal, sendo o ornidazol o mais recomendado.

Para o tratamento da amebíase 0,5 g do ornidazol deve ser administrado oralmente duas vezes ao dia durante 5 a 10 dias. Crianças devem receber 25 mg.kg<sup>-1</sup> com a administração de uma dose única diária durante 5 a 10 dias (ROSSIGNOL; MAISONNEUVE; CHO, 1984; SINGH et al., 2003; URIBARRÍ, 1987).

Pacientes com disenteria amebiana devem receber a dose única diária de 1,5 g durante 3 dias, sendo a dose infantil diária de 40 mg.kg<sup>-1</sup>. Em severa disenteria amebiana e abscesso hepático amebiano, o ornidazol deve ser administrado por infusão intravenosa na dose de 0,5 a 1,0 g inicialmente, seguido de 0,5 g a cada 12 horas durante 3 a 6 dias, nestas circunstâncias a dose infantil diária é de 20 a 30 mg.kg<sup>-1</sup> (HUGGINS; PEREIRA, 1984; ROSSIGNOL; MAISONNEUVE; CHO, 1984; SINGH et al., 2003).

### Giardiase

A giardiase é uma das parasitoses intestinais mais comum no mundo e também pode ser denominada como giardose ou lamblíase. O protozoário flagelado *Giardia intestinalis* é o agente etiológico responsável por esta parasitose (ALI; HILL, 2003).

Ozbilgin e colaboradores (2002) compararam a eficácia do ornidazol e a do metronidazol no tratamento da giardíase por meio de um ensaio clínico englobando 175 crianças turcas, com faixa etária entre 2 a 15 anos e por meio de diferentes posologias. Administração do ornidazol em dose única em 3 diferentes concentrações (30, 25 e 20 mg.kg<sup>-1</sup>), 25 mg.kg<sup>-1</sup> de ornidazol por dia em duas administrações diárias durante 5 dias e 20 mg.kg<sup>-1</sup> de metronidazol por dia em três doses diárias durante 7 dias. Obteve-se a erradicação da *Giardia intestinalis* de 97, 97 e 94% nos pacientes tratados com 30, 25 e 20 mg.kg<sup>-1</sup> do ornidazol em dose única, respectivamente. A erradicação da *Giardia intestinalis* nos pacientes tratados com 25 mg.kg<sup>-1</sup> de ornidazol durante 5 dias foi de 100% e de 89% nos pacientes tratados com metronidazol. Os resultados apontam que não houve diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos com o ornidazol, porém os regimes terapêuticos à base do ornidazol são significativamente mais efetivos do que o tratamento com o metronidazol ( $p < 0,05$ ), sendo que nenhum importante efeito colateral foi detectado em qualquer paciente e todos os sintomas clínicos desapareceram em todos os pacientes.

Oren (2001) comparou a eficácia clínica do tratamento a base do ornidazol dose única e do metronidazol com duração de 7 dias em 75 crianças israelenses por meio de um estudo randomizado. Todas as crianças tratadas foram clinicamente curadas e o ornidazol foi considerado como sendo uma alternativa eficaz em dose única para o tratamento da *Giardia intestinalis*.

Para o tratamento de giardíase, 1,0 ou 1,5 g de ornidazol deve ser administrado oralmente como uma única dose diária durante 1 ou 2 dias, sendo a dose infantil diária de 30 a 40 mg.kg<sup>-1</sup> (LEVI, 1983; ROSSIGNOL; MAISONNEUVE; CHO, 1984; SINGH et al., 2003, WERNER, 1983).

## **Tratamento com Associações Medicamentosas**

### **Helicobacter pylori**

*Helicobacter pylori* é uma bactéria que infecta o revestimento mucoso do estômago humano. Muitas úlceras pépticas, alguns tipos de gastrite e de cânceres de estômago são causados por meio da infecção pelo *H. pylori*. Associações medicamentosas do ornidazol com outros fármacos são eficazes para a erradicação do *Helicobacter pylori* (UNGAN; KULAÇOLU; KAYHAN, 2001; UYGUN et al., 1999).

Os regimes eficazes de erradicação de infecções causadas pelo *Helicobacter Pylori* são baseados hoje em dia na administração de uma substância com um forte efeito supressor da

secreção de HCl gástrico combinada com dois antibióticos. Os antibióticos de primeira linha recomendados, são a claritromicina, a amoxicilina e o metronidazol.

O problema recente na terapia de erradicação desta infecção é a resistência crescente a claritromicina e aparentemente também ao metronidazol. Conseqüentemente levantou-se o questionamento de se é possível verificar a resistência crescente do metronidazol substituindo-o por um fármaco que possua um espectro de ação semelhante e certa diferença em sua estrutura química (DÍTE et al., 2002).

Díte e colaboradores (2002) realizaram um estudo substituindo o metronidazol pelo ornidazol. Os resultados revelaram que no grupo tratado com a administração do ornidazol durante 7 dias obteve-se erradicação de 93,0% e com o grupo tratado com a administração do metronidazol obteve-se 82,6% de erradicação. Os autores recomendam como regime terapêutico: omeprazol 2 x 20 mg, claritromicina 2 x 500 mg e ornidazol 2 x 500 mg.

### **Artrite Reumatóide**

A artrite reumatóide é uma doença inflamatória crônica comum, com prevalência mundial de 0,4 a 1,9% e nacional de 0,2 e 1% (TORIGOE; LAURINDO, 2006). Ogrendik (2006) realizou um estudo randomizado, duplo-cego, placebo-controlado de três meses de duração a fim de se avaliar a eficácia clínica, segurança e tolerabilidade do ornidazol em 160 pacientes portadores de artrite reumatóide.

Os pacientes foram distribuídos em três grupos, os quais receberam a administração de 1 g de ornidazol, 500 mg de ornidazol e placebo. Uma porcentagem significativamente grande dos pacientes tratados com 1 g de ornidazol obteve uma resposta ACR20 (Critério de melhoria de 20% segundo o Colégio Americano de Reumatologia) em três meses, comparados com os pacientes que receberam placebo (62,0 vs. 32,4%;  $P < 0,001$ ). Uma porcentagem maior de pacientes tratados com 1 g de ornidazol obteve uma resposta ACR 50 (38,3 vs. 10,9%;  $P < 0,001$ ) e resposta ACR70 (19,6 vs. 1,2%;  $P < 0,001$ ) comparados com pacientes que receberam placebo. O tratamento com o ornidazol foi associado também a uma significativa redução da dor, a melhoria significativa na qualidade de vida, as avaliações globais do médico e do paciente, e as reduções significativas na atividade da doença, conseqüentemente este fármaco foi considerado seguro, bem tolerado e associado com as melhorias nos sintomas inflamatórios da artrite reumatóide (OGRENDIK, 2006).

## **Profilaxia**

### **Doença de Crohn**

A doença de Crohn é um dos males pertencentes ao grupo das doenças inflamatórias intestinais (DII). Sua causa não é conhecida, sendo considerado uma doença crônica, pois afeta predominantemente a parte inferior do intestino delgado (íleo) e do intestino grosso (cólon) e não apresenta cura. Habitualmente, causa diarreia, cólica abdominal, freqüentemente febre e, às vezes, sangramento retal. Esta doença incide preferencialmente em pessoas entre 15 e 35 anos, com predomínio no sexo feminino (RUTGEERTS et al., 2005; TRIANTAFILLIDIS et al., 1998).

O tratamento medicamentoso inclui antiinflamatórios e imunossupressores. O tratamento cirúrgico é indicado em casos de complicações (perfuração, obstrução), ausência de resposta ao tratamento clínico e comprometimento grave de crescimento. O ornidazol é um fármaco eficaz e seguro para o tratamento profilático pós-operatório da doença de Crohn (FAUBION, 2006).

A doença de Crohn retorna quase inevitavelmente após a ressecção ileocólica, e a terapia profilática eficaz ainda não foi bem identificada, por este motivo Rutgeerts e colaboradores (2005) investigaram a eficácia e a segurança do tratamento medicamentoso a base do ornidazol, um antimicrobiano nitroimidazólico, para a prevenção do retorno clínico da doença de Crohn após a ressecção ileocólica curativa em uma experimentação clínica duplo-cedo e placebo-contralada com a administração de 500 mg de ornidazol duas vezes ao dia.

O ornidazol foi considerado uma terapia profilática pós-operatória eficaz da doença de Crohn, pois impediu o retorno das lesões intestinais assim como o retorno da sintomatologia clínica durante o período de um ano após a cirurgia. A proporção dos pacientes com recaída clínica em um ano diminuiu de 37,5% no grupo tratado com o placebo a 7,9% no grupo tratado com o ornidazol. Os autores propõem com base nos resultados alcançados a utilização do ornidazol para a profilaxia pós-operatória da doença de Crohn, com tudo o uso crônico do ornidazol em doses baixas, como 500 mg ao dia, pode ser bem tolerado a longo prazo, mas não esta claro que tal dose será efetiva para a profilaxia.

### **Procedimentos Cirúrgicos**

Para a prevenção de infecções causadas por bactérias anaeróbias durante procedimentos cirúrgicos, principalmente odontológicos, 1,0 g do ornidazol deve ser administrada por infusão intravenosa cerca de 30 minutos antes da cirurgia (SINGH et al., 2003).

### **Farmacocinética e Toxicologia**

Os valores da DL<sub>50</sub> oral, dose letal para 50% da população estudada, em ratos e camundongos são de 1780 e 1420 mg.kg<sup>-1</sup>, respectivamente. Outro estudo demonstra uma DL<sub>50</sub> em camundongos acima de 2000 mg.kg<sup>-1</sup> para administração oral e para administração intraperitoneal (HOFFER; GRUNBERG, 1974; LASSERRE, 1979).

Em humanos o ornidazol é bem tolerado, apresentando poucos efeitos colaterais. Os efeitos colaterais mais freqüentes apresentados pelo fármaco são tonturas, vertigens e desmaios. Outros efeitos adversos ocorrentes são náuseas, espasmos intestinais e gosto metálico. Fadiga, insônia, rash cutâneo e cefaléia também já foram relatados (SWEETMAN, 2002).

O ornidazol é prontamente absorvido pelo trato gastrointestinal e pela mucosa vaginal. Um pico plasmático de concentração entre 30 µm.mL<sup>-1</sup> foi encontrado após 2 horas da administração de uma dose única oral de 1,5 g, que decaiu para cerca de 9 µm.mL<sup>-1</sup> após 24 horas e 2,5 µm.mL<sup>-1</sup> após 48 horas. Após sucessivas doses de 500 mg a cada 12 horas, a concentração máxima obtida e a concentração final antes da próxima administração do medicamento foi de 14 e 6 µm.mL<sup>-1</sup>, respectivamente. Um pico plasmático de concentração de 5 µm.mL<sup>-1</sup> foi quantificado após 12 horas de inserção de um pessário vaginal de 50 mg (GUYOT et al., 1987; LAMP et al., 1999).

A eliminação plasmática de meia-vida do ornidazol é de 14,1 ± 0,05h, o tempo de permanência média é de 19,4 ± 0,6h e o clearance médio plasmático é de 50,6 ± 2,1 mL.min<sup>-1</sup>. Menos de 15% da substância se liga as proteínas plasmáticas. O fármaco é extensamente distribuído nos tecidos e fluidos corporais, incluindo o líquido cerebrospinal (JOKIPII; JOKIPII, 1980; MARTIN et al., 1990).

O ornidazol é metabolizado no fígado e excretado pela urina (geralmente como conjugados e metabólitos), e em uma pouca extensão pelas fezes. A maior rota de eliminação envolve biotransformações pelo fígado, e alguma extensão através da excreção biliar (LASSERRE, 1979; SCHWARTZ, 1979).

A eliminação do ornidazol é prejudicada em pacientes portadores de cirrose hepática. Uma única dose intravenosa de 500 mg foi administrada em 10 pacientes com cirrose hepática severa e a farmacocinética foi comparada com 10 voluntários sadios (TABURET, 1986). A meia-vida média foi dobrada para  $21,9 \pm 2,9$  horas. Esta observação sugere a necessidade de ajuste posológico para os pacientes portadores de doenças hepáticas. Esta hipótese foi confirmada por outros autores que realizaram estudos com pacientes portadores de outras doenças hepáticas (TABURET, 1989).

No caso de pacientes portadores de falência renal crônica avançada, a meia-vida de uma administração intravenosa de ornidazol não foi prolongada. A meia-vida foi dividida em pacientes em diálise peritoneal contínua em ambulatório. Estas descobertas indicam que uma modificação na dose posológica usual para tais pacientes não se faz necessária, mas a administração do ornidazol deve ser realizada após a hemodiálise. Outra alternativa terapêutica para este grupo de pacientes se faz na administração de dose adicional de ornidazol antes da hemodiálise para compensar a remoção do fármaco por este procedimento (MERDJAN, 1985).

O uso do ornidazol em mulheres grávidas foi estudado por pesquisadores, estes administraram 1,0 g do ornidazol diariamente através de uma dose única para 5 mulheres grávidas que sofriam de colite e pielonefrite. A tolerância local e sistêmica do ornidazol foi excelente, e as pacientes mostraram completa remissão da doença sem a ocorrência de parto prematuro. Não houve acúmulo do ornidazol, e os parâmetros farmacocinéticos observados foram os mesmos que de indivíduos saudáveis. As crianças nascidas, cujas mães foram submetidas ao tratamento, mostraram um desenvolvimento inicial normal e seu crescimento era normal. Consequentemente, o regime posológico do ornidazol para pacientes gestantes não precisa ser alterado (BOURGEA et al., 1995).

## **Conclusão**

O ornidazol é um fármaco seguro e eficaz para o tratamento e profilaxia de diversas infecções protozoárias e bacterianas. Sua utilização já foi consolidada como a alternativa de escolha para diversas terapias clínicas, apresentando vantagens terapêuticas frente aos fármacos de sua classe, conforme descrito nos trabalhos científicos publicados ao longo dos anos de sua utilização terapêutica.



## Referências

ALI, S. A.; HILL, D. R. Giárdia Intestinalis. **Current Opinion in Infectious Diseases**, Londres, v. 16, n. 5, p. 456-460. 2003.

AMORIM, M. M. R.; SANTOS, L. C. Tratamento da vaginose bacteriana com gel vaginal de Aroeira (*Schinus terebinthifolius* Raddi): ensaio clínico randomizado. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 95-102, mar. 2003.

ATTISSO, M. A. Cytomorphological study of the action of ornidazole against *Bacteroides fragilis*. **Pathologie-Biologie**, Paris, v. 35, p. 813-818. 1987.

AYDOGAN, T. et al. Kikuchi Fujimoto disease secondary to *Entamoeba histolytica*: Case report. **Journal of Infection**, Kent, v. 53, n. 4, p. e171-e173, out. 2006.

BOURGEA P. et al. Disposition of ornidazole and its metabolites during pregnancy. **The Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, Londres, v. 35, p. 691-696, maio. 1995.

CHUNGE, C. N. Treatment of symptomatic trichomoniasis among adult women using oral nitroimidazoles. **East African Medical Journal**, Nairobi, v. 69, n. 7, p. 398-401. 1992.

DÍTE, P. et al. Double blind randomized multicentre study of a seven-day eradication regime of *Helicobacter pylori* by omeprazole, clarithromycin and ornidazole vs. omeprazole, clarithromycin and metronidazole. **Vnitřní lékařství**, Praha, v. 48, n. 10, p. 976-980. 2002.

FAUBION, W. A.; BOUSVAROS JUNIOR, A. Medical Therapy for Refractory Pediatric Crohn's Disease. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, Edinburgh, v. 4, n. 10, p. 1199-1212. 2006.

GIAMARELLOU, H. et al. Ornidazole versus clindamycin: comparative evaluation in the treatment of 140 serious anaerobic infections. **Chemotherapy**, Karger, v. 28, n. 6, p. 502-511. 1982.

GUYOT, L. et al. Etude de la diffusion péritonéale de l'ornidazole: influence du mode d'administration. **Thérapie**, Les Ulis, v. 42, n. 2, p. 201-203. 1987.

HOFFER, M.; GRUNBERG, E. Synthesis and Antiprozoal Activity of 1-(3-Chloro-2-Hydroxypropyl) Substituted Nitroimidazoles. **Journal of Medicinal Chemistry**, Washington, v. 17, n. 9, p. 1019-1020, set. 1974.

HUGGINS, D.; PEREIRA, M. F. Tratamento da amebiose intestinal com ornidazol. Estudo comparativo entre dois esquemas terapeuticos. **Revista Brasileira de Medicina**, São Paulo, v. 41, n. 7, p. 271-273. 1984.

ICENBOZ, T.; ICENBOZ, U.; OZTURK, S. Comparative in vitro cytotoxic effects of ornidazole, and ciprofloxacin against *Trichomonas vaginalis* trophozoites. **Journal of Chemotherapy**, Firenze, v. 16, n. 5, p. 458-462. 2004.

JOKIPII, A. M. M.; JOKIPII, L. Cerebrospinal fluid concentrations of metronidazole, tinidazole and ornidazole in rabbits. **Infection**, Munich, v. 8, n. 3, p. 101-103, maio. 1980.

KHRIANIN, A. A.; RESHETNIKOV, O. V. Clinical and microbiological efficacy of metronidazole and ornidazole in the treatment of urogenital trichomoniasis in men. **Antibiotics and Chemoterapy**, Moskva, v. 51, n. 1, p. 18-21. 2006.

LAMP, K. C. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the nitroimidazole antimicrobials. **Clinical Pharmacokinetics**, Nova Yorque, v. 36, p. 353-73. 1999.

LASSERRE, R. Treatment of Amebiasis. **The Philippine Journal of Microbiology and Infectious Diseases**, Manila, v. 8, n. 1, p. 1-6. 1979.

LEVI, G. C. Tratamento da giardiose por meio de dose única do ornidazol. **Arquivos Brasileiros de Medicina**, Rio de Janeiro, v. 57, n. 4, p. 179-180.1983.

MACIEL, G. P.; TASCA, T.; DE CARLI, G. A. Aspectos clínicos, patogênese e diagnóstico e *Trichomonas vaginalis*. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 3, p. 152-160, jun. 2004.

MAJEWSKA, A. C. et al. Heterogeneity in the sensitivity of stocks and clones of *Giardia* to metronidazole and ornidazole. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 85, n. 1, p. 67-69, jan. 1991.

MARTIN C. et al. Pharmacokinetics and tissue penetration of a single dose of ornidazole (1,000 milligrams intravenously) for antibiotic prophylaxis in colorectal surgery. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, Washington, v. 34, n. 10, p. 1921-1924, out. 1990.

MERDJAN H. Pharmacokinetics of ornidazole in patients with renal insufficiency; influence of haemodialysis and peritoneal dialysis. **British Journal of Clinical Pharmacology**, Londres, v. 19, n. 2, p. 211-217. 1985.

MUNOZ, E.; CASTELLA, J.; GUTIERREZ, J. F. In vivo and in vitro sensitivity of *Trichomonas gallinae* to some nitroimidazole drugs. **Veterinary Parasitology**, Boston, v. 78, n. 4, p. 239-246, ago. 1998.

OGRENDIK, M. Treatment of rheumatoid arthritis with ornidazole: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Rheumatology International**, Berlin, v. 26, n. 12, p. 1132-1137, out. 2006.

OREN, B. Single-dose ornidazole versus seven-day metronidazole therapy of Giardiasis in Kibbutzim children in Israel. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, Berlin, v. 10, n. 11, p. 963-965. 2001.

ÖZBILGIN, A. et al. Giardiasis treatment in Turkish children with a single dose of ornidazole. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, Estocolmo, v. 34, n. 12, p. 918-920, dez. 2002.

ÖZKAN, A. S.; SENTURK, Z.; BIRYOL, I. Determination of ornidazole in pharmaceutical dosage forms based on reduction at an activated glassy carbon electrode. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, v. 157, n. 2, p.137-144, nov. 1997.

RAY, S. K. et al. "Resultant Bond moment" as a newly developed electronic parameter in the design of antibacterial, antiprotozoal nitroimidazole derivatives. **Arzneimittel-Forschung**, Aulendorf, v. 48, n. 3, p. 286-290, mar. 1998.

ROSSIGNOL, J. F.; MAISONNEUVE, H.; CHO, Y. W. Nitroimidazoles in the treatment of trichomoniasis, giardiasis, and amebiasis. **International Journal of Clinical Pharmacology, Therapy, and Toxicology**, München, v. 22, n. 6, p. 63-72, fev. 1984.

RUTGEERTS, P. et al. Ornidazole for Prophylaxis of Postoperative Crohn's Disease Recurrence: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial. **Gastroenterology**, Filadelfia, v. 128, n. 4, p. 856-861. 2005.

RYU, J. S. et al. In vitro activities of 2,2'-dipyridyl against *Trichomonas vaginalis*, *Candida albicans*, and *Gardnerella vaginalis*. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Seoul, v. 11, n. 1, p. 124-130, nov. 2001.

SARAÇOĞLU, F. et al. Treatment of bacterial vaginosis with oral or vaginal ornidazole, secnidazole and metronidazole. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, Nova Yorque, v. 62, n. 1, p. 59-61, jul. 1998.

SCHWARTZ D. E. Metabolic studies of ornidazole in the rat, in the dog and in man. **Xenobiotica**, Londres, v. 9, n. 9, p. 571-581, set. 1979.

SINGH, P. et al. Ornidazole: Comprehensive Profile. **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**, Boston, 30, p. 123-184. 2003.

SWEETMAN, S. C. (Ed.). **Martindale: The Complete Drug Reference**, 33. ed. The Royal Pharmaceutical Society, London: Pharmaceutical Press, p. 599. 2002.

TABURET A. M. Pharmacokinetics of ornidazole in patients with severe liver cirrhosis. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, Sant Louis, v. 40, n. 3, p. 359-564. 1986.

TABURET A. M. Pharmacokinetics of ornidazole in patients with acute viral hepatitis, alcoholic cirrhosis, and extrahepatic cholestasis. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, Sant Louis, v. 45, n. 4, p. 373-379. 1989.

TOLOSA, J. E. et al. The International Infections in Pregnancy (IIP) study: Variations in the prevalence of bacterial vaginosis and distribution of morphotypes in vaginal smears among pregnant women. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, Nova Yorque, v. 195, n. 5, p. 1198-1204, nov. 2006.

TORIGOE, D. Y.; LAURINDO, I. M. M. Artrite reumatóide e doenças cardiovasculares. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, v. 46, suppl. 1, p. 60-66, jun. 2006.

TRIANAFILLIDIS, J. K. et al. Ornidazole in the prevention of recurrence of Crohn's disease. **Italian Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Pisa, v. 30, p. 446-447. 1998.

UNGAN, M.; KULAÇOLU, H.; KAYHAN, B. Cure rates obtained with five different *Helicobacter pylori* eradication protocols in patients with duodenal ulcer: a prospective, open-label randomized study in a primary care setting in Turkey. **Current Therapeutic Research, Clinical and Experimental**, Nova Yorque, v. 62, n. 6, p. 462-472, jan. 2001.

URIBARRÍ, R. S. Ornidazol en el tratamiento de la amibiasis intestinal. **Kasmera**, Maracaibo, v. 15, n. ¼, p. 167-172. 1987.

UYGUN, A. et al. Efficacy of omeprazole plus two antimicrobials for the eradication of *Helicobacter pylori* in a Turkish population. **Clinical Therapeutics**, New Dehli, v. 21, n. 9, p. 1539-1548. 1999.

WERNER, A. Tratamiento de la amebiasis intestinal y giardiasis con ordinazol. **Revista Médica de Chile**, Santiago, v. 111, n. 11, p. 1130-1133, nov. 1983.

WERNER, H.; KUCHENBECKER, K.; HAMMANN, R. Efficacy of tinidazole against anaerobes in comparison with metronidazole, ornidazole, cefoxitin and lamoxactam. **Immunität und Infektion**, Baden-Baden, v. 11, n. 4, p. 143-147. 1983.

WÜST, J. Presumptive diagnosis of anaerobic bacteremia by gas-liquid chromatography of blood cultures. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 6, n. 6, p. 586-590, dez. 1977.

### 3.2 Artigo II: Desenvolvimento e Validação de Método Analítico: Passo Importante na Produção de Medicamentos

#### Development and Validation of Analytical Methods: An Important Steep in the Production of Medicines

Mônica Felts de La Roca<sup>1</sup>, José Lamartine Soares Sobrinho<sup>1</sup>, Lívio César Cunha Nunes<sup>2</sup>  
Pedro José Rolim Neto<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - LTM - UFPE

<sup>2</sup>Núcleo de Tecnologia Farmacêutica - NTF - UFPI

#### Resumo

Os medicamentos vêm sendo cada vez mais objetos de preocupação e de inúmeras pesquisas realizadas mundialmente, sobretudo com relação ao controle de qualidade. Por tais razões, é de enorme importância o desenvolvimento de métodos analíticos eficazes e confiáveis para o controle de qualidade dos medicamentos comercializados. A necessidade de se mostrar a qualidade das análises químicas, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida, pois dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irreversíveis. Assim, para conseguir alcançar o objetivo da qualidade de forma confiável, é necessária a implantação de um sistema de garantia de qualidade que incorpore as normas de BPFC, sendo que as atividades de validação se mostram como prioritárias para o cumprimento destas práticas, aliadas à necessidade do desenvolvimento de métodos analíticos, de acordo com os órgãos reguladores.

**Palavras-chave:** Método Analítico; Validação; Medicamentos; Controle de Qualidade.

---

\* Endereço para Correspondência: Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM. Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco. Av Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária, Recife – PE. 50740-521. Tel/Fax (81) 3272-1383. E-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

## **Abstract**

Medicines are continuing to become more and more objects of concern and innumerable researches are carried out world-wide, above all with relation to the quality control. For such reasons, the development of efficient and trustworthy analytical methods for the quality control of commercialized medicines is of enormous importance. The necessity of showing the quality of the chemical analyses is being more recognized and demanded, therefore untrustworthy analytical data can lead to disastrous decisions and irretrievable financial damages. Thus, to reach the objective of trustworthy quality, the implantation of a system of quality assurance that incorporates the GMPC norms is necessary, the activities of validation being the priority for the fulfilment of these practices, allied to the necessity of the development of analytical methods, in accordance with the regulating agencies.

**Key-Words:** Analytical Methods; Validation; Medicines; Quality Control.

## **Introdução**

Nas quatro últimas décadas, particularmente após a constatação de surtos de iatrogenia medicamentosa, dos quais o mais conhecido foi o da talidomida, a preocupação com o item “segurança” passou a ter importância igual ou maior que o relativo à “eficácia terapêutica”, merecedor de atenção prioritária durante muito tempo (BARROS, 2004).

A consciência dos riscos inerentes ao uso de medicamentos cada vez mais potentes está ligado, de forma mais visível, à morte de mais de 100 pessoas, em 1937, nos EUA, por falência renal em consequência do uso de um elixir de sulfanilamida contendo, como veículo, o dietileno glicol, e a epidemia de focomelia que, nos primeiros anos da década de 60 atingiu vários países onde a talidomida foi comercializada (PERINI; ACURCIO, 2001).

Os medicamentos vêm sendo cada vez mais objetos de preocupação e de inúmeras pesquisas realizadas mundialmente, sobretudo com relação ao controle de qualidade. Por tais razões, é de enorme importância o desenvolvimento de métodos analíticos eficazes e confiáveis para o controle de qualidade dos medicamentos comercializados, tornando-se imprescindível o desenvolvimento de rotinas de análises que, além de servirem para este propósito, favoreçam sua implantação em comparação aos métodos usuais (PARISOTTO et al., 2005).

A implantação da política de genéricos pela Lei nº9787 (BRASIL, 1999) tem colaborado para o aprimoramento da fabricação, controle e garantia de qualidade dos medicamentos no Brasil. A aplicação prática de conceitos como equivalência farmacêutica, biodisponibilidade e bioequivalência, aliada ao cumprimento das BPFC fornecem base técnica e científica para assegurar a intercambialidade entre o medicamento genérico e o respectivo produto de referência (STORPIRTS et al., 2004).

A necessidade de se mostrar a qualidade das análises químicas, está sendo cada vez mais reconhecida e exigida, pois dados analíticos não confiáveis podem conduzir a decisões desastrosas e a prejuízos financeiros irrecuperáveis (RIBANI et al., 2004). Para garantir que um método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra analisada, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação (LIMA et al., 2006).

O objetivo de uma validação é demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos (RANDAU et al., 2005). A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (BRASIL, 2003a).

O presente trabalho teve por objetivo traçar um panorama e, concomitantemente, discutir a importância e o impacto do desenvolvimento de metodologias analíticas e suas validações na produção de medicamentos.

## **Desenvolvimento**

### **Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPFC)**

Boas Práticas de Fabricação e Controle é a parte da Garantia da Qualidade que assegura que os produtos são consistentemente produzidos e controlados, com padrões de qualidade apropriados para o uso pretendido e requerido pelo registro. O cumprimento das BPFC está dirigido primeiramente à diminuição dos riscos inerentes a qualquer produção farmacêutica, os quais não podem ser detectados através da realização de ensaios nos produtos acabados. Os riscos são constituídos essencialmente por: contaminação-cruzada, contaminação por partículas e troca ou mistura de produto (BRASIL, 2003b).



### **Controle de Qualidade**

O controle de qualidade é a parte das BPFs referente à amostragem, especificações, ensaios, procedimentos de organização, documentação e procedimentos de liberação que asseguram que os ensaios necessários e relevantes sejam executados e que os materiais não sejam liberados para uso, nem os produtos liberados para venda ou fornecimento, até que a qualidade dos mesmos seja julgada satisfatória. O controle de qualidade não deve limitar-se às operações laboratoriais, deve estar envolvido em todas as decisões relacionadas à qualidade do produto (BRASIL, 2003b).

### **Desenvolvimento de Métodos Analíticos**

A qualidade de um método analítico é determinada, pela qualidade de suas etapas, com seus erros experimentais. Por um lado, esta qualidade depende da técnica de amostragem, com a qual seleciona-se uma fração presumivelmente representativa da amostra primária (GONÇALVES, 2005).

Nesta fração devem-se identificar e quantificar analitos, que são os componentes químicos que, também presumivelmente, a definem. É comum não se analisar quimicamente matrizes na forma bruta, pois elas costumam ter e gerar interferências e incompatibilidades com equipamentos analíticos (VALENTE; AUGUSTO, 2000).

Para contornar tais problemas são empregados procedimentos de preparo da amostra, com os quais procura-se isolar e concentrar os analitos a níveis adequados e obter um nível de limpeza da amostra que não comprometa a sua análise química. Portanto, o preparo da amostra também inclui a sua compatibilização com a técnica que fornecerá os dados químicos (BEDOR, 2007).

Milhões de medições analíticas são efetuadas a cada dia em milhares de laboratórios ao redor do mundo. Uma forte infra-estrutura internacional de medições já implementada verifica a necessidade progressiva de dados analíticos comparáveis e consistentes, para a eliminação de barreiras técnicas entre os países. (BARROS, 2002).

Para atingir este processo de reconhecimento mútuo a nível internacional, em que uma vez efetuada a medição esta é aceita em qualquer país, requisitos legais, de certificação e de acreditação devem ser observados. As normas internacionais, nacionais e sistemas da qualidade destacam a importância da validação de métodos analíticos e a documentação do trabalho de validação, para a obtenção de resultados confiáveis e adequados ao uso pretendido (ICH, 2005; INMETRO, 2003).

O primeiro passo de um desenvolvimento analítico é a realização de uma revisão bibliográfica, a fim de se investigar e existências de métodos farmacopéicos, inéditos ou alternativos publicados para a quantificação do fármaco de interesse, tais métodos podem servir como norteadores de um desenvolvimento, podendo este ser finalizado em um menor tempo e com um custo analítico reduzido, devido a otimização desta etapa. O conhecimento sobre as propriedades físico-químicas do fármaco, da rota de síntese e da existência de substâncias químicas correlacionadas também se faz de extrema importância para o início de um desenvolvimento analítico.

### **Validação de Métodos Analíticos**

Validação de métodos é um aspecto vital da garantia da qualidade analítica. Os métodos de ensaios usados para avaliar a conformidade de produtos farmacêuticos com especificações estabelecidas devem atingir padrões adequados de exatidão, precisão e confiabilidade (SILVA et al., 2006; ALENCAR et al., 2004).

Segundo a resolução 899 da ANVISA (2003), a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados. Para a farmacopéia americana (UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION, 2006) a validação de métodos analíticos assegura a credibilidade destes durante o uso rotineiro.

Diante das exigências feitas pelos órgãos reguladores, além dos aspectos técnicos e comerciais, os laboratórios que realizam análises químicas devem submeter-se a um credenciamento a agências credenciadoras como a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO).

Os parâmetros analíticos devem ser pautados de acordo com o uso do método, então se pode encontrar diferenças significativas nos parâmetros avaliados entre diferentes métodos e suas respectivas finalidades (NUNES et al., 2005).

Os parâmetros analíticos geralmente encontrados para validação de métodos analíticos são: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e quantificação, além da robustez (MONTEIRO et al., 2006).

A seletividade é o passo primordial no desenvolvimento e validação de um método analítico e deve ser avaliada continuamente durante a validação e subsequente uso do método. Uma forma de verificação da seletividade é a observação de ausência de picos em amostra placebo (GRANGEIRO JÚNIOR et al., 2004).

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma determinada faixa de aplicação (ICH, 2005). Pode-se observar de acordo com a Figura 1 que a linearidade pode ser confirmada com a regressão linear dos métodos dos mínimos quadrados dos pontos médios de três curvas autênticas com no mínimo cinco pontos em concentrações previamente definidas (SOARES SOBRINHO et al., 2005).

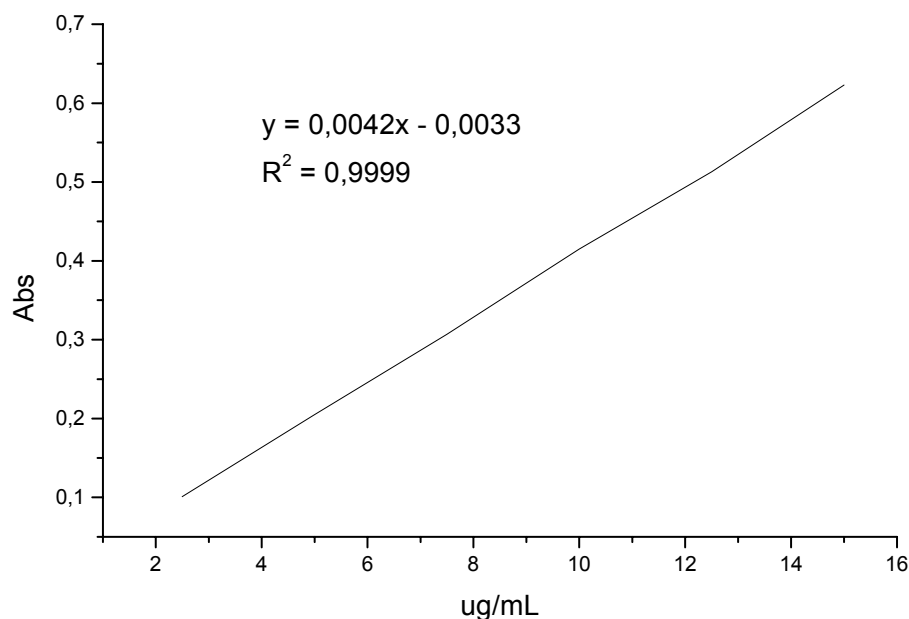


Figura 1. Linearidade do método analítico obtida por regressão linear.

A precisão em validação de métodos representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra (ICH, 2005). Pode ser considerada em três níveis diferentes: precisão intermediária, repetitividade e reprodutibilidade, sendo facultado a realização de dois níveis (SOARES SOBRINHO et al., 2006a).

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (INMETRO, 2003). Um processo bastante utilizado para avaliação da exatidão de um método é o ensaio de recuperação como demonstrado por Bedor e colaboradores (2004).

Os limites de detecção e quantificação (LD e LQ) representam a menor concentração da substância em análise que pode ser detectada e quantificada respectivamente (ICH, 2005; INMETRO, 2003). Demonstra a sensibilidade ao princípio ativo conforme realizado por Soares Sobrinho e colaboradores (2006b).

A robustez de um método mede a sensibilidade que este apresenta face a pequenas e deliberadas variações. Pode ser avaliada pela variação de parâmetros como marca e concentração de solvente e tipo de agitação (SOARES SOBRINHO et al., 2005).

A estatística é ferramenta fundamental no tratamento dos resultados gerados no processo de validação de método analítico, ferramentas como coeficiente de variação, análise de variância ANOVA, teste *t Student* são alguns testes utilizados nesse tratamento afim de dar embasamento científico-matemático aos experimentos realizados (ALENCAR et al., 2006a; ALENCAR et al., 2006b; MONTEIRO et al., 2005; LEITE et al., 2000).

## **Conclusão**

A indústria farmacêutica deve se responsabilizar pela qualidade dos produtos farmacêuticos, assegurando adequabilidade dos mesmos com relação aos fins para os quais tenham sido produzidos, e cumprir com as exigências legais, não colocando os pacientes em risco em função de sua inadequabilidade em termos de segurança, qualidade ou eficácia.

Assim, para conseguir alcançar o objetivo da qualidade de forma confiável, é necessária a implantação de um sistema de garantia de qualidade que incorpore as normas de BPFC, sendo que as atividades de validação se mostram como prioritárias para o cumprimento dessas práticas, aliadas à necessidade do desenvolvimento e validação de métodos analíticos, componente importante dentro de todo o sistema de qualidade.

## Referências

ALENCAR, J. R. B. et al. Validação de Limpeza de Zidovudina: Estratégia Aplicada ao Processo de Fabricação de Medicamentos Anti-Retrovirais. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 1, p. 1-8, jan./mar. 2004.

a ALENCAR, J. R. B. et al. Validação de Limpeza de Equipamentos numa Indústria de Medicamentos: Estratégia para Escolha do 'pior caso'. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 1, p. 13-18, jan./mar. 2006.

b ALENCAR, J. R. B. et al. Validação de Limpeza de Equipamentos Multipropósitos para Formas Farmacêuticas Líquidas: Caso da Zidovudina Xarope. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 25, n. 1, p. 35-42, jan./mar. 2006.

BARROS, J. A. C. **Políticas Farmacêuticas: a serviço dos interesses da saúde?**. Brasília: UNESCO, 2004. 400p.

BARROS, C. B. Validação de Métodos Analíticos. **Biólogo**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 175-177, jul./dez. 2002.

BEDOR, D. C. G. **Desenvolvimento e validação de métodos bioanalíticos para dosagem de antimicrobianos em plasma humano**. 2007. 63 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)–Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

BEDOR, D. C. G. et al. Validação de Método Analítico. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 68, p. 32-36, dez. 2004.

BRASIL, Lei nº. 9787, de 10 de fevereiro de 1999. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 11 fev. 1999.

a BRASIL, Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 jun. 2003.

b BRASIL, Resolução RE nº 210, de 04 de agosto de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Determina a todos os estabelecimentos fabricantes de medicamentos, o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 ago. 2003.

GONÇALVES, T. M. **Desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para o estudo farmacocinético comparativo de duas classes de fármacos (Anti-retroviral e penicilínico) em indivíduos sadios**. 2005. 97 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)–Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2005.

GRANGEIRO JUNIOR, S. et al. Validação da metodologia analítica de comprimido à base de Nevirapina. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 65, p. 24-28, set. 2004.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL - INMETRO. **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**, DOQ-CGCRE-008. 2003.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION: ICH Harmonised Tripartite Guideline. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)**, nov. 2005.

LEITE, A. C. L. et al. Análise Quantitativa por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência da Zalcitabina Produzida pelo LAFEPE. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 81, n.1/2, p. 29-30, 2000.

LIMA, L. R. et al. Desenvolvimento e Validação de Metodologia de Quantificação Gravimétrica de Resina Glicosídica em Fitoterápico Contendo Operculina macrocarpa (L.). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 16, n. 4, p. 562-567, out./dez. 2006.

MONTEIRO, D. B. et al. Desenvolvimento e Validação do Método Analítico de Doseamento de Matéria-Prima Lamivudina por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 4, p. 120-123, dez. 2006.

MONTEIRO, V. C. S. et al. Validação da Metodologia Analítica para Nelfinavir por CLAE. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 75, p. 21-28, jul. 2005.

NUNES, L. C. C. et al. Análise de Perigos na Produção de Comprimidos. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 79, p. 24-28, nov. 2005.

PARISOTTO, G. et al. Análise Exploratória Aplicada no Estudo de Medicamentos Contendo Piroxicam. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 499-505, out./dez. 2005.

PERINI, E.; ACURCIO, F. A. Ciências Farmacêuticas. In: GOMES, M. J. V. M.; REIS, A. M. M. (Org.). **Uma abordagem em Farmácia Hospitalar**, 1. ed. São Paulo: Editora Atheneu, 2001. cap. 5, p. 85-108.

RANDAU, K. P. et al. Desenvolvimento e Validação Analítica para Anti-Retroviral Zidovudina ( AZT ) - Matéria-Prima. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 24, n. 1, p. 104-108, jan./mar. 2005.

RIBANI, M. et al. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 771-780, set./out.2004.

SILVA, R. M. F. et al. Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica para Doseamento da Matéria-Prima e de Cápsula de Sulfato de Indinavir por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, Buenos Aires, v. 25, n. 4, p. 578-82, out./dez. 2006.

SOARES SOBRINHO, J. L. et al. Validação de Metodologias Analíticas no Mercado Farmacêutico: Caso Paracetamol. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 73, p. 35-41, maio. 2005.

a SOARES SOBRINHO, J. L. et al. Desenvolvimento e Validação do Método Analítico para o Doseamento de Benzndazol. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 87, n. 3, p. 78-80, jul./set. 2006.

b SOARES SOBRINHO, J. L. et al. Alternativa para o Doseamento de Metildopa Comprimido: Desenvolvimento e Validação do Método Analítico. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 82, p. 31-35, fev. 2006.

STORPIRTS, S. et al. **Equivalência Farmacêutica no Contexto da Intercambialidade entre Medicamentos Genéricos e de Referência: Bases Técnicas e Científicas**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), abr. 2004. 19p.

UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION. Validation of Compendial Methods. In: **US Pharmacopeia**, 29. ed., Rockville, 2006. cap. 1225.

VALENTE, A. L. P.; AUGUSTO, F. Microextração por Fase Sólida. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 4, p. 523-530, jul./ago. 2000.

# Capítulo II

## 4 ANÁLISE TÉRMICA

### 4.1 Artigo III: **Caracterização Térmica da Matéria-Prima Ornidazol**

*Artigo a ser submetido ao Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*

### 4.2 Artigo IV: **Estudo de Compatibilidade do Ornidazol, Misturas Binárias e Produto Acabado Empregando-se Análise Térmica**

*Artigo a ser submetido ao Journal Thermochemica Acta*



#### 4.1 Artigo III: Caracterização Térmica da Matéria-Prima Ornidazol

Mônica Felts de La Roca<sup>1</sup>; José Lamartine Soares Sobrinho<sup>1</sup>, Severino Grageiro Junior<sup>1</sup>, Pablo Queiroz Lopes<sup>2</sup>, Lidiane Pinto Correia<sup>2</sup>, Fábio Santos de Souza<sup>2</sup>, Rui Oliveira Macêdo<sup>2</sup>, Pedro José Rolim Neto<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM, UFPE.

<sup>2</sup>Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos – LCQPF, UFPB.

#### Resumo

O presente trabalho teve por objetivo a caracterização térmica da matéria-prima ornidazol oriunda de três diferentes fornecedores por meio das técnicas termoanalíticas DTA, DSC e TG; o estudo da cinética de decomposição térmica do fármaco por meio do método de Ozawa, a determinação do teor de pureza do fármaco por meio da equação de Van't Hoff e a comparação entre os resultados de pureza obtidos por meio da análise térmica com outras técnicas consagradas, como a espectrofotometria de absorção molecular no ultra-violeta e a cromatografia líquida de alta eficiência, utilizando tratamento estatístico teste Turkey 5%.

**Palavras-chaves:** Ornidazol; Cinética de Decomposição; Caracterização Térmica; Fornecedores; Pureza.

#### Introdução

Análise Térmica é um termo usado para descrever as técnicas analíticas que medem as propriedades físicas e químicas de uma amostra em uma função da temperatura. A amostra está sujeita a um esquema de temperatura que consiste de uma série de segmentos pré-selecionados nos quais a amostra é aquecida ou resfriada a uma taxa constante ou mantida a uma temperatura constante (CHENG et al., 2000; ARAÚJO et al., 2003).

---

\* Endereço para Correspondência: Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM. Departamento de Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária, Recife – PE. 50740-521. Tel/Fax (81) 3272-1383. E-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

Na indústria farmacêutica a análise térmica possibilita a caracterização e identificação de fármacos, assim como a determinação de sua pureza, água livre, estabilidade e cinética de degradação, dentre outros (OZAWA, 2000; LIRA et al., 2007).

O presente trabalho teve como objetivo a caracterização térmica, o estudo da cinética de decomposição térmica e a determinação do teor de pureza do fármaco ornidazol, além da comparação entre os resultados de pureza obtidos por meio da análise térmica e outras técnicas consagradas de quantificação de fármacos, como a espectrofotometria e cromatografia.

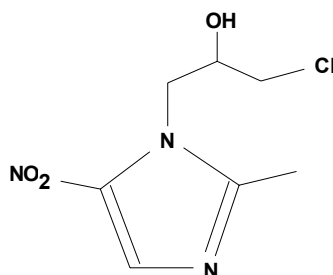


Figura 1. Fórmula estrutural do ornidazol.

## Matérias e Métodos

Para a realização deste trabalho utilizaram-se as técnicas termoanalíticas Análise Térmica Diferencial (DTA), Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) e Termogravimetria (TG), além de ferramentas analíticas como a equação de Van't Hoff, para determinação de pureza e o método de Ozawa para a determinação da cinética de decomposição térmica do fármaco. Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software TASYs da Shimadzu e os dados obtidos com a equação de Van't Hoff foram confrontados com os dados obtidos por meio das técnicas de Espectrofotometria de Absorção Atômica no Ultravioleta-Visível (Espectro UV/VIS) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Analisou-se a matéria-prima ornidazol de três diferentes fornecedores (A, B e C).

### Estudos Calorimétricos

As curvas de DTA do fármaco foram obtidas em triplicata por meio de um analisador térmico diferencial de marca Shimadzu, modelo DTA-50, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de  $50\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , sendo a massa das amostras analisadas em torno de 8,0 mg, acondicionadas em um cadinho de alumina nas razões de aquecimento de  $10^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $500^\circ\text{C}$  e  $30^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $900^\circ\text{C}$ .

Foram obtidas imagens do processo calorimétrico através do calorímetro da marca Shimadzu, modelo DSC-50 acoplado ao sistema fotovisual, modelo VCC-520, conectado a um microscópio da marca Olympus e a uma câmara fotográfica da marca Sanyo, utilizando uma atmosfera de nitrogênio, fluxo de 50mL.min<sup>-1</sup>, com razão de aquecimento de 10°C.min<sup>-1</sup> até a temperatura de 500 °C.

Realizou-se a calibração do DTA e do DSC via ponto de fusão do padrão Índio (156,6°C ± 0,3) e Zinco (419,6°C ± 0,3), sob as mesmas condições das amostras.

### **Estudo Termogravimétrico**

As curvas de TG do fármaco foram obtidas em triplicata por meio de termobalança Shimadzu, modelo TGA 50H, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL.min<sup>-1</sup>, sendo a massa das amostras em torno de 8,0 mg (± 0,5), acondicionadas em cadinho de alumina na razão de aquecimento de 10, 15 e 20°C.min<sup>-1</sup> até 900°C.

### **Determinação de Pureza**

Foi realizada a determinação da pureza do princípio-ativo em triplicata por meio das técnicas de CLAE e ESPECTRO UV/VIS, para fins de comparação com dados obtidos por meio da técnica de DSC tratados no software TASYs e equação de Van't Hoff (MACÊDO; NASCIMENTO, 2002).

$$T_m = T_0 - \left( \frac{RT_0^2 \chi^2}{\Delta H_0} \right) \left( \frac{1}{F} \right)$$

Figura 2: Equação de Van't Hoff

Sendo: T<sub>m</sub>: Temperatura da amostra no equilíbrio (K); T<sub>0</sub>: Ponto de derretimento do componente puro (K); R: Constante de gás; χ<sup>2</sup>: Concentração da impureza (fração da toupeira); ΔH<sub>0</sub>: Entalpia da fusão da amostra; F: Fração derretida em T<sub>m</sub>.

### **Espectrofotometria no Ultravioleta-Visível (ESPECTRO UV/VIS)**

O método de doseamento do ornidazol matéria-prima por espectrofotometria de absorção molecular foi devidamente desenvolvido e validado, utilizando-se equipamento espectrofotômetro calibrado da Marca Vankel<sup>®</sup>, modelo UV-VIS Cary 50. A preparação da amostra e do padrão engloba: pesar exatamente 25 mg da amostra ou padrão de ornidazol e transferir para um balão volumétrico (bv) de 25 mL, adicionar a solução diluente de

metanol:água destilada (45:55), sonicar o bv por 5 minutos e completar o volume com a solução diluente; pipetar 1 mL desta solução para bv de 100 mL e completar o volume com água destilada de maneira a se obter uma concentração final de 10 µg/mL; zerar o espectrofotômetro com comprimento de onda 320 nm, utilizando água destilada como branco.

### **Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

O método de doseamento do ornidazol matéria-prima por CLAE foi devidamente desenvolvido e validado, utilizando-se equipamento CLAE da Shimadzu<sup>®</sup>, com PDA-Detector de arranjo de iodo, usando software Class -VP<sup>®</sup>. A preparação da amostra e do padrão engloba: pesar exatamente 25 mg da amostra de ornidazol e transferir para um balão volumétrico (bv) de 25 mL, adicionar a solução diluente de metanol:água ultra-pura (45:55), sonicar o bv por 5 minutos e completar o volume com a solução diluente; pipetar 1 mL desta solução para bv de 25 mL e completar o volume com solução diluente de metanol:água ultra-pura (45:55) de maneira a se obter uma concentração final de 40 µg/mL; filtrar a solução em membrana com porosidade 0,45 µm e transferir a amostra para o vial.

As condições cromatográficas foram: coluna cromatográfica Shim-Pack<sup>®</sup> ODS com empacotamento C<sub>18</sub>, 150 x 4,6 mm Ø, partícula 5 µm; temperatura do forno: 30°C; fluxo da fase móvel: 1,0 mL/min; comprimento de onda: 318 nm; fase móvel: metanol:água ultra-pura acidificada a 0,05% de ácido fosfórico (45:55); primeira e segunda diluição das amostras: metanol:água ultra-pura (45:55); concentração de leitura das amostras de ornidazol: 40µg/mL; volume de injeção: 20 µL; tempo de corrida: 5 minutos; tempo de retenção do ornidazol: aproximadamente 3,24 minutos.

## **Resultados e Discussão**

### **Caracterização Térmica do Fármaco Ornidazol**

A curva de DTA do fármaco ornidazol demonstrou o processo endotérmico característico de fusão na faixa de temperatura de 85,54 a 98,26°C; com pico de fusão aproximadamente em 90,45°C e calor de reação de 122,43 J.g<sup>-1</sup>, correspondente a faixa de fusão da literatura (SINGH, 2003) e processo exotérmico característico de decomposição na faixa de 212,76 a 236,30°C; com pico de decomposição em 228,17°C e calor de reação de 514,36 J.g<sup>-1</sup> (Figura 3).

Pode-se comprovar a autenticidade e qualidade das três matérias-primas, uma vez que não houve diferenças significativas entre as médias dos picos de fusão e decomposição obtidos com a análise do padrão de trabalho e matérias-primas por DTA, seguindo o teste de Turkey com 5% de significância.

Tabela 1. Correlação entre as Médias dos Picos de Fusão e Decomposição do Ornidazol Matéria-Prima

Ornidazol	DTA Pico Fusão (°C)	DTA ΔH Fusão (J/g)	DTA Pico Decomposição (°C)	DTA ΔH Decomposição (J/g)
<b>Padrão</b>	90,45 <sup>a</sup>	- 122,43	228.17 <sup>b</sup>	514,36
<b>Fornecedor A</b>	92,17 <sup>a</sup>	-121,81	227,95 <sup>b</sup>	495,49
<b>Fornecedor B</b>	90,77 <sup>a</sup>	-119,71	228,77 <sup>b</sup>	542,28
<b>Fornecedor C</b>	92,12 <sup>a</sup>	-123,38	227,87 <sup>b</sup>	530,14

<sup>a,b</sup> Letras iguais indicam que no nível de 5%, não há diferença significativa entre as respectivas médias entre fornecedores.

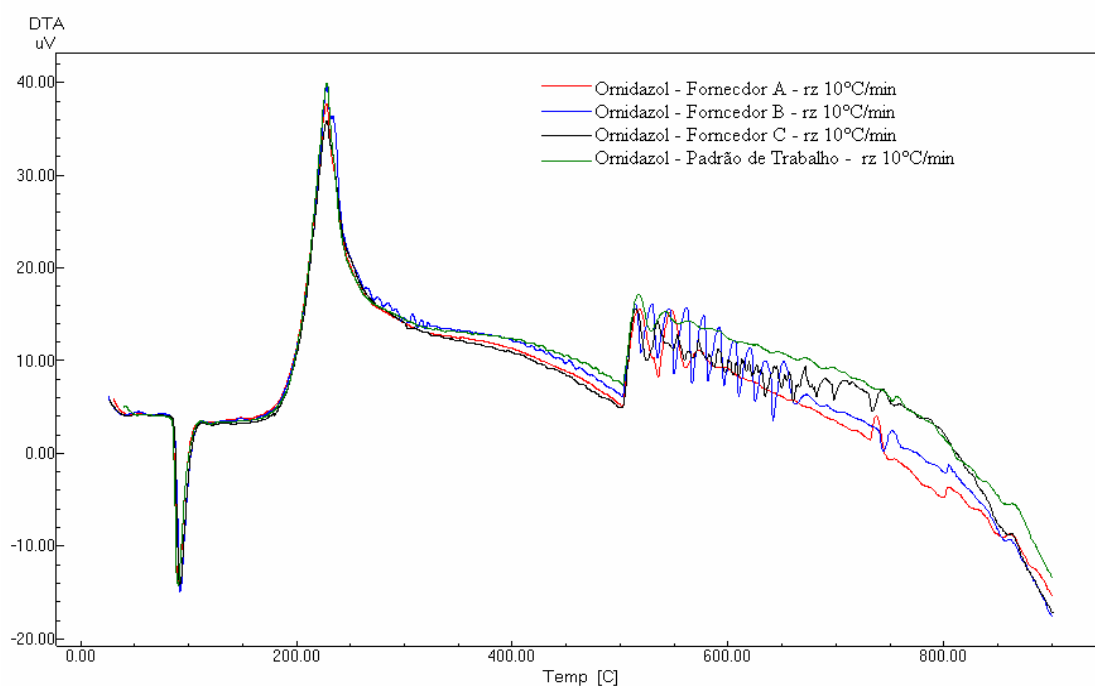


Figura 3. Curvas de DTA do padrão de trabalho e matérias-primas do fármaco ornidazol oriundas de diferentes fornecedores.

O perfil de termodecomposição das matérias-primas analisadas pode ser evidenciado por meio das curvas de TG, no qual observou-se uma semelhança no comportamento térmico das mesmas em relação a substância de referência. Caracterizando o fármaco ornidazol como termicamente estável até 231,60°C, apresentando etapa principal de decomposição entre 231,60 a 263,66°C; com perda de massa de aproximadamente 41,93% (Figura 4).

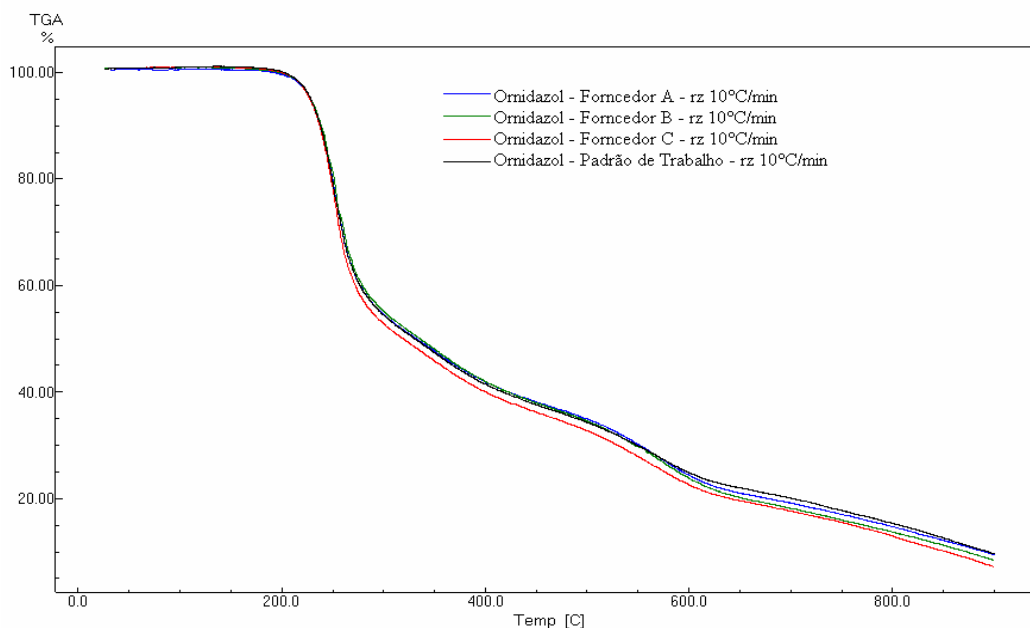


Figura 4. Curvas de TG do padrão de trabalho e matérias-primas do fármaco ornidazol oriundas de diferentes fornecedores.

Os processos de transições de fase, endotérmicos e exotérmicos, avaliados por DSC convencional, ocorridos nas amostras foram visualizados através das imagens obtidas pelo sistema DSC fotovisual. O início do processo de fusão do fármaco foi evidenciado na temperatura de 79°C, com término em 90°C. O processo de transição de fase correspondente ao processo de fusão, caracterizado como endotérmico, apresentando uma mudança no arranjo ordenado das moléculas para um arranjo mais caótico, sendo este fenômeno visualizado pelo aumento do volume da amostra demonstrado na figura abaixo (Figura 5: quadro C a E). Em 130°C observa-se o início da mudança de coloração da amostra sem aparentes alterações do volume da mesma, correspondendo ao início da decomposição caracterizado pelo escurecimento da amostra (Figura 5: quadro F e G). Em 187°C o escurecimento da amostra é intensificado e em 250°C evidencia-se uma redução do volume, com perda de massa, o que comprova as faixas fornecidas pelas curvas de DTA, com processo de decomposição entre 212 e 236°C evidenciado por meio de um pico endotérmico, e de TG, com processo de decomposição entre 231 a 263°C evidenciado pela perda de massa da amostra.

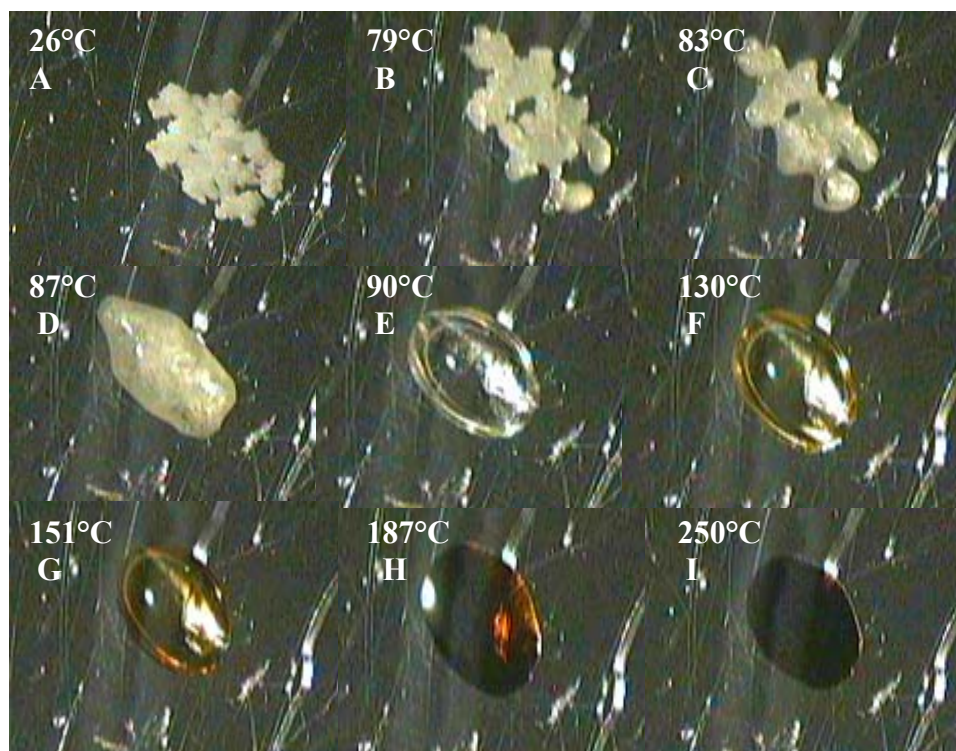


Figura 5. Etapas do processo de fusão e decomposição do fármaco ornidazol

### Determinação dos parâmetros cinéticos por Ozawa

A análise da ordem de reação  $n$ , fator de frequência  $A$  e energia de ativação  $E_a$  dos dados termogravimétricos dinâmicos dos diferentes fornecedores de ornidazol estão ilustrados na Tabela 2. A ordem da reação de uma determinada amostra será aquela que fornece o melhor coeficiente de correlação. Quanto mais próximo da unidade melhor o valor do coeficiente de correlação.

Tabela 2. Cinética de Decomposição Térmica do Fármaco Ornidazol.

Fornecedor	Ordem	A ( $\text{min.}^{-1}$ )	$E_a$ ( $\text{Kj.mol}^{-1}$ )
A	0	8,908E+11	126,44
B	0	1,321E+04	50,39
C	0	1,343E+08	91,07

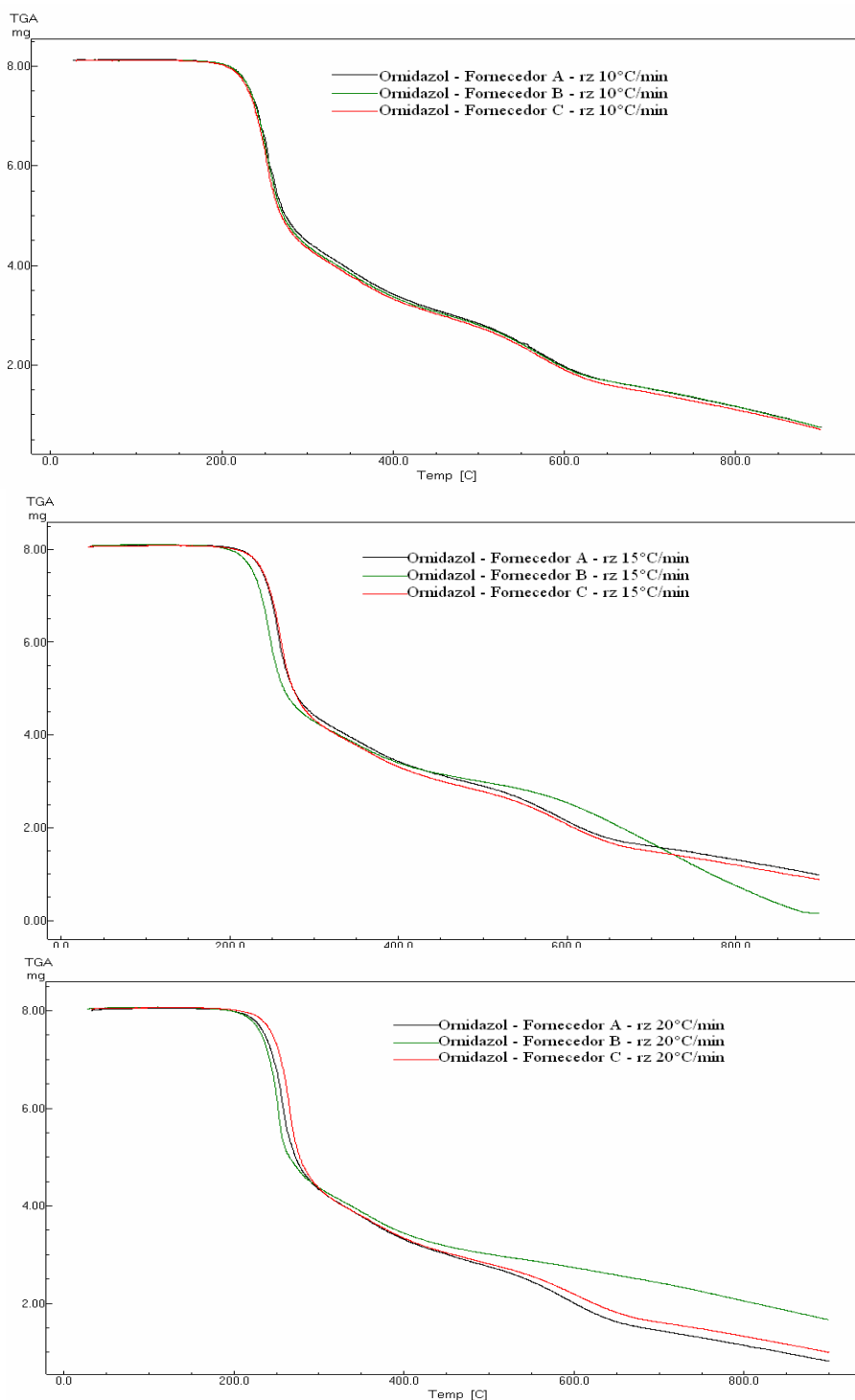


Figura 6. Perfil termogravimétrico do ornidazol matéria-prima dos fornecedores A, B e C, nas razões de aquecimento de 10, 15 e 20°C.min<sup>-1</sup>.

O ornidazol apresentou uma cinética de decomposição de ordem zero. Neste tipo de reação a decomposição procede a uma velocidade constante, sendo independente da concentração de quaisquer um dos reagentes, a projeção da quantidade remanescente (como ordenada) versus o tempo (como abscissa) é linear (FLORENCE; ATTWOOD, 2003).



Os parâmetros cinéticos de termodecomposição das diferentes matérias-primas analisadas por meio de três razões de aquecimento (10, 15 e 20°C.min<sup>-1</sup>) considerando a mesma fração decomposta ( $\alpha = 0,1$  a 0,9), apresentaram a seguinte ordem crescente de  $E_a$   $B < C < A$ . Este fato sugere que o fármaco ornidazol do fabricante B apresentou nas razões de 15 e 20°C.min<sup>-1</sup> um processo de perda de massa da etapa determinante em temperaturas inferiores aos lotes A e C, o que pode ser confirmado através do perfil termogravimétrico apresentado na figura 6. Esta diferenciação do perfil termogravimétrico pode se dar por diferenças cristalinas e características físicas entre os compostos.

### **Determinação da pureza do ornidazol pela equação Van't Hoff**

A equação de Van't Hoff baseia-se na determinação da pureza de substâncias que apresentam picos de fusão definidos, avaliando diferentes parâmetros, como pequenas frações de impurezas, deslocamento do pico, dentre outros parâmetros que impliquem na medida da pureza do fármaco.

Os dados obtidos por meio da técnica de DSC foram tratados com a equação de Van't Hoff a fim de se dosear o percentual de pureza do princípio-ativo presente nas matérias-primas analisadas. Os valores obtidos com este tratamento foram confrontados com os valores obtidos por meio de outras duas técnicas analíticas desenvolvidas e validadas para o mesmo fármaco em questão.

Todas as matérias-primas apresentaram teor dentro do limite de especificação estabelecido de 98 a 101% na base seca, estando aprovadas para o processo produtivo e pode-se afirmar que não há diferenças estatisticamente significativas entre as matérias-primas de diferentes fornecedores e entre as técnicas analíticas utilizadas com 95% de confiança, de acordo com o tratamento estatístico Teste Turkey ao nível de 5% de significância.

Com base nos resultados apresentados o método termoanalítico demonstrou ser estatisticamente igual aos dois métodos analisados, espectroscopia e cromatografia, sendo estes métodos tradicionais e aceitos pelas farmacopéias mundiais, podendo ser considerado um método alternativo para o doseamento de fármacos na rotina laboratorial (NASCIMENTO, 2000).

Tabela 3. Determinação do teor de ornidazol

<b>ORNIDAZOL</b>	<b>DSC</b>	<b>CLAE</b>	<b>ESPECTRO UV/VIS</b>
<b>Amostra</b>	Teor (%)	Teor (%)	Teor (%)
<b>Padrão</b>	99,68 <sup>a/1</sup>	100,10 <sup>b/1</sup>	100,48 <sup>c/1</sup>
<b>Fornecedor A</b>	98,12 <sup>a/2</sup>	99,69 <sup>b/2</sup>	100,22 <sup>c/2</sup>
<b>Fornecedor B</b>	98,09 <sup>a/3</sup>	99,22 <sup>b/3</sup>	100,39 <sup>c/3</sup>
<b>Fornecedor C</b>	98,03 <sup>a/4</sup>	99,28 <sup>b/4</sup>	99,90 <sup>c/4</sup>
<b>Coefficiente de Variação (CV)</b>	0,097	0,916	0,235

<sup>a,b,c</sup> Letras iguais indicam que no nível de 5%, não há diferença significativa entre as respectivas médias entre fornecedores. <sup>1,2,3,4</sup> Números iguais indicam que no nível de 5%, não há diferença significativa entre as respectivas médias entre técnicas analíticas.

## Conclusão

Com base nos resultados, pode-se afirmar que a matéria-prima ornidazol oriunda de três diferentes fornecedores após terem sido analisadas por meio de diferentes técnicas analíticas demonstraram adequar-se ao fim pretendido, por apresentarem autenticidade e qualidade comprovadas. Por meio da técnica de termogravimetria pode-se evidenciar uma diferenciação do fornecedor B quanto aos demais fornecedores devido a diferenciação do seu comportamento térmico em razões de aquecimento elevadas.

Os parâmetros cinéticos determinados por meio do método de Ozawa apresentaram cinética de decomposição térmica de ordem zero, sendo esta uma cinética linear e a determinação de pureza do fármaco evidenciou que não há diferenças estatisticamente significativas entre as matérias-primas e que a técnica analítica de DSC pode ser considerada uma alternativa precisa para a quantificação de fármacos uma vez que os resultados apresentados por meio desta técnica não diferem estatisticamente dos resultados apresentados pelas técnicas analíticas de HPLC e ESPECTRO UV-VÍS bastante utilizadas e reconhecidas mundialmente.

## Referências

ARAÚJO, A. S. et al. Thermal analysis of the antiretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, v. 260, n. 2, p. 303-314, jul. 2003

CHENG, S. Z. D. et al. Thermal analysis: the next two decades. **Thermochimica Acta**, Amsterdã, v. 355, n. 1-2, p. 59-68, jul. 2000.

LIRA, A. M. et al. Compatibility studies of lapachol with pharmaceutical excipients for the development of topical formulations. **Thermochimica Acta**, Amsterdã, v. 457, n. 1-2, p. 1-6, jun. 2007.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios Físicos-Químicos em Farmácia**. 3. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2003. 732 p.

MACEDO, R. O; NASCIMENTO, T. G. Quality control of thiabendazole pré-formulation and tablets by TG and DSC coupled to the photovisual system. **Thermochimica Acta**, Amsterdã, v. 392-393, p.85-92, set. 2002.

NASCIMENTO, T. G. **Estudo de Compatibilidade e Estabilidade Térmica das Misturas Binárias e Medicamentos Anti-Hipertensivos utilizando a Análise Térmica**. João Pessoa [Dissertação de Mestrado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos - UFPB], 2000.

OZAWA, T. Thermal analysis – review and prospect. **Thermochimica Acta**, Amsterdã, v. 355, n. 1-2, p. 35-42, jul. 2000.

## 4.2 Artigo IV: **Estudo de Compatibilidade do Ornidazol, Misturas Binárias e Produto Acabado Empregando-se Análise Térmica**

Mônica Felts de La Roca<sup>1</sup>; José Lamartine Soares Sobrinho<sup>1</sup>, Keyla Emanuelle Ramos da Silva<sup>1</sup>, Pablo Queiroz Lopes<sup>2</sup>, Lidiane Pinto Correia<sup>2</sup>, Fábio Santos de Souza<sup>2</sup>, Rui Oliveira Macêdo<sup>2</sup>, Pedro José Rolim Neto<sup>1\*</sup>.

<sup>1</sup>Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM, UFPE.

<sup>2</sup>Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos – LCQPF, UFPB.

### **Resumo**

O presente trabalho teve por objetivo o estudo de compatibilidade entre o fármaco ornidazol, misturas binárias e produto acabado por meio de técnicas termoanalíticas DTA, DSC e TG. Os resultados demonstraram que as associações do ornidazol com os excipientes consagrados na prática farmacêutica não provocaram mudanças significativas no comportamento térmico das misturas binárias e produto acabado do ponto de vista da compatibilidade, assim como o processo de obtenção da forma farmacêutica não alterou as propriedades térmicas da formulação, possibilitando o emprego destas matérias-primas na obtenção da forma farmacêutica comprimido de liberação imediata pelo processo produtivo utilizado com estabilidade térmica comprovada.

**Palavras-chaves:** Ornidazol; Excipientes; Análise Térmica; Comprimidos; Compatibilidade Físico-Química.

### **Introdução**

As formas farmacêuticas são consideradas formas de veiculação de fármacos a organismos vivos, cujos benefícios da ação farmacológica do princípio-ativo sejam superiores aos malefícios causados pelo mesmo. A segurança e eficácia dos medicamentos são diretamente proporcionais a estabilidade do fármaco na forma farmacêutica (SOUZA; MACEDO; VERAS, 2002).

---

\* Endereço para Correspondência: Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM. Departamento de Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária, Recife – PE. 50740-521. Tel/Fax (81) 3272-1383. E-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

No ato do registro do medicamento os órgãos reguladores exigem o fornecimento de dados que comprovem a estabilidade do fármaco frente aos agentes externos ao medicamento como umidade, temperatura e radiação, no entanto pouco se exige e estuda sobre a interação fármaco-excipiente, interação esta que muitas vezes é negligenciada no desenvolvimento do produto farmacêutico (TOMASSETTI et al., 2005).

Estas interações, além de diversas outras propriedades físico-químicas podem ser investigadas através das técnicas termoanalíticas e por estas razões estas técnicas tem sido cada vez mais exploradas nas indústrias farmacêuticas (MACEDO; NASCIMENTO, 2002; LIRA et al., 2007).

O presente trabalho teve como objetivo o estudo de compatibilidade entre o fármaco ornidazol e excipientes consagrados na prática farmacêutica para a compressão por via úmida, por meio da análise das misturas binárias e produto acabado.

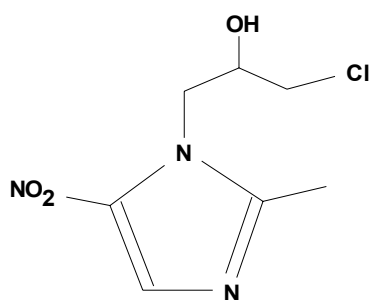


Figura 1. Formula estrutural do ornidazol.

## Matérias e Métodos

Para a realização deste trabalho utilizaram-se as técnicas termoanalíticas Análise Térmica Diferencial (DTA), Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) e Termogravimetria (TG). Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software TASYs da Shimadzu. A matéria-prima ornidazol e os excipientes estudados foram fornecidos pela Apsen Farmacêutica S/A.

### Estudos Calorimétricos

As curvas de DTA do fármaco, excipientes, respectivas misturas binárias e produto acabado foram obtidas em triplicata por meio de um analisador térmico diferencial de marca Shimadzu, modelo DTA-50, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de  $50\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , sendo a

massa das amostras analisadas em torno de 8,0 mg, acondicionadas em um cadinho de alumina, nas razões de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $500^{\circ}\text{C}$  e  $30^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $900^{\circ}\text{C}$ . Realizou-se a calibração do DTA via ponto de fusão do padrão Índio ( $156,6^{\circ}\text{C} \pm 0,3$ ) e Zinco ( $419,6^{\circ}\text{C} \pm 0,3$ ), sob as mesmas condições das amostras.

### **Estudo Termogravimétrico**

As curvas de TG do fármaco e das misturas binárias foram obtidas em triplicata por meio de termobalança Shimadzu, modelo TGA 50H, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de  $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , sendo a massa das amostras em torno de 8,0 mg ( $\pm 0,5$ ), acondicionadas em cadinho de alumina, nas razões de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até  $900^{\circ}\text{C}$ .

### **Caracterização Térmica do Produto Acabado**

Com o auxílio de termopares, utilizados para quantificar as temperaturas atingidas em um processo de compressão, caracterizou-se este processo como exotérmico, com liberação de energia que pode atingir temperaturas que ultrapassam a faixa de 90 a  $100^{\circ}\text{C}$ .

O ornidazol apresenta ponto de fusão em torno de  $90^{\circ}\text{C}$ , por este motivo decidiu-se avaliar se o processo de compressão poderia estar influenciando a qualidade da forma farmacêutica final.

## **Resultados e Discussão**

### **Caracterização Térmica do Fármaco Ornidazol**

A curva de DTA do fármaco ornidazol demonstrou o processo endotérmico característico de fusão na faixa de temperatura de  $85,54$  a  $98,26^{\circ}\text{C}$ ; com pico de fusão aproximadamente em  $90,45^{\circ}\text{C}$  e calor de reação de  $122,43\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ , correspondente a faixa de fusão da literatura (SINGH, 2003) e processo exotérmico característico de decomposição na faixa de  $212,76$  a  $236,30^{\circ}\text{C}$ ; com pico de decomposição em  $228,17^{\circ}\text{C}$  e calor de reação de  $514,36\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ . As curvas de TG demonstram que o ornidazol é estável termicamente até  $231,60^{\circ}\text{C}$  e apresenta etapa principal de decomposição entre  $231,60$  a  $263,66^{\circ}\text{C}$ ; com perda de massa de 41,93% (Figura 2).

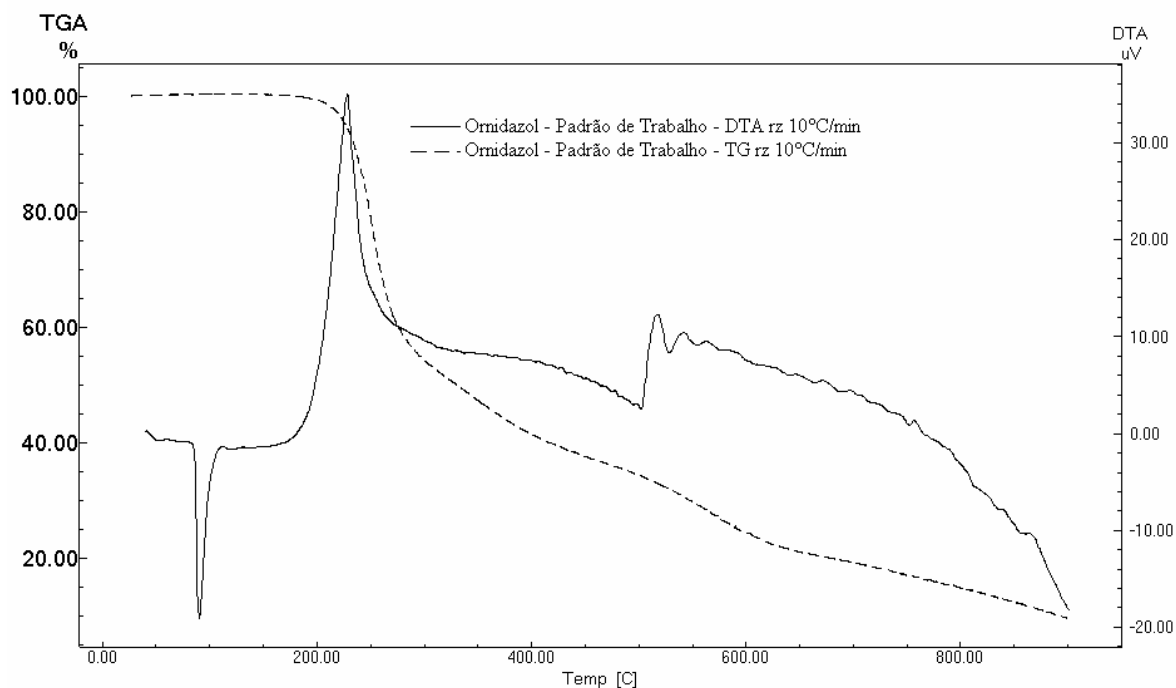


Figura 2. Curvas de DTA e TG do ornidazol

### Caracterização Térmica dos Excipientes

A obtenção dos termogramas dos excipientes de uso consagrados na obtenção da forma farmacêutica comprimido teve, por finalidade, a comparação com os termogramas obtidos por meio das misturas binárias dos excipientes com o fármaco em questão, a fim de se analisar as possíveis interações físicas e químicas entre os compostos. Dentre os excipientes estudados, encontra-se o amido de milho, a croscarmelose sódica, o estearato de magnésio, a celulose microcristalina 101 e o polivinilpirrolidona, os termogramas obtidos estão dispostos nas Figuras 3 e 4.

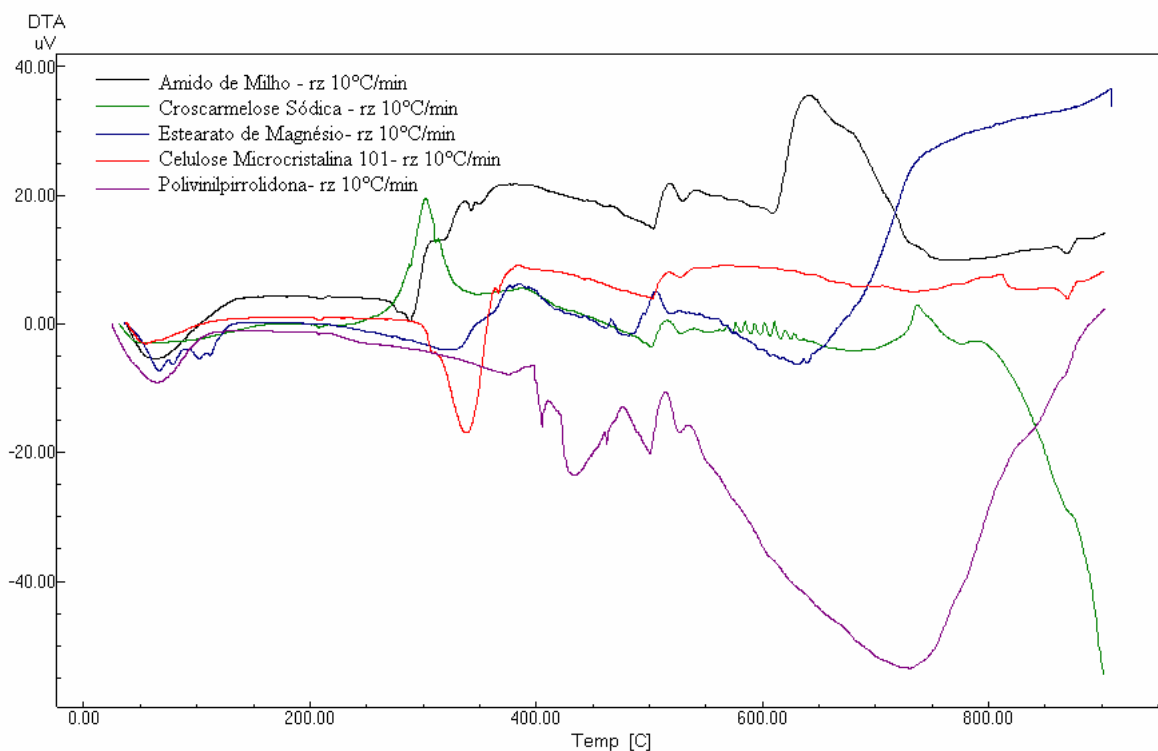


Figura 3. Curvas de DTA dos excipientes estudados.

### Erro!

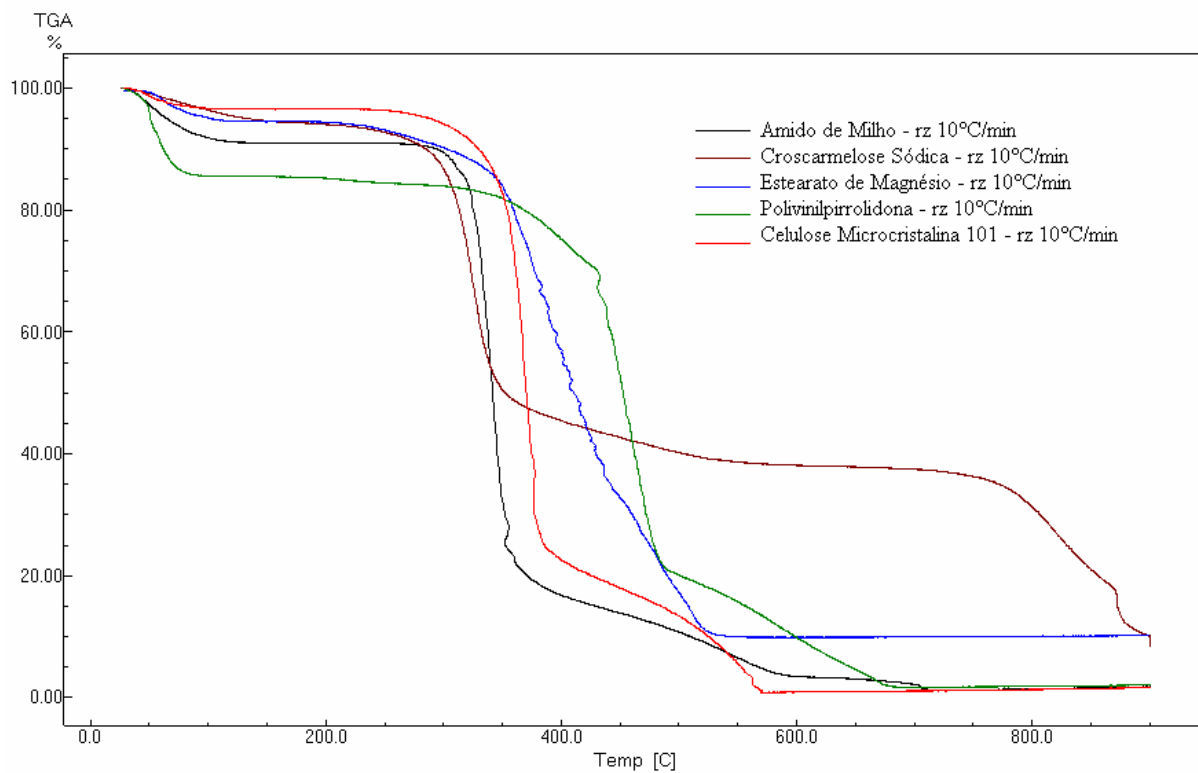


Figura 4. Curvas de TG dos excipientes estudados



### Caracterização Térmica das Misturas Binárias

Por meio dos termogramas obtidos com as misturas binárias por meio da técnica de DTA pode-se observar que não houve uma significativa variação na temperatura do pico de fusão do fármaco para todas as misturas. Já para o pico de decomposição observou-se um deslocamento significativo em três das seis misturas analisadas e o processo de transição de fase ocorreu em temperaturas mais elevadas. Este deslocamento pode ser considerado uma interação física e não química, pois uma vez misturados estes dois componentes passam a ter um comportamento térmico diferente dos comportamentos individuais e neste caso a estabilidade térmica foi prolongada, uma vez que as misturas binárias precisam estar em temperaturas mais elevadas para que inicie o processo de decomposição térmica do fármaco ornidazol. Deve-se também levar em consideração de que os excipientes croscarmelose sódica, celulose microcristalina e polivinilpirrolidona, são moléculas grandes em comparação com a molécula do ornidazol, este uma vez fundido é incorporado pelos excipientes, fato este que pode estar protegendo o fármaco e retardando a sua decomposição (Figura 5 e Tabela 1).

As curvas de TG evidenciam que para praticamente para todas as misturas binárias ocorreu um primeiro evento de perda de massa inexistente para o fármaco, este evento é decorrente da perda de água superficial presente nos excipientes, como se pode comprovar ao analisar as curvas de TG dos excipientes isolados (Figura 4). Porém a etapa de degradação principal não foi alterada em percentual de massa perdida, e para algumas das misturas binárias o início da etapa principal de degradação foi retardado para temperaturas mais elevadas, dados estes que se correlacionam com os obtidos pela técnica de DTA (Figura 6).

Tabela 1. Parâmetros calorimétricos do ornidazol.

Amostra	DTA Pico	DTA $\Delta H$	DTA Pico	DTA $\Delta H$
	Fusão (°C)	Fusão (J/g)	Decomposição (°C)	Decomposição (J/g)
<b>Ornidazol</b>	90,45	- 122,43	228,17	514,36
<b>Ornidazol + Amido</b>	92,27	-47,07	229,58	284,67
<b>Ornidazol + Croscar.</b>	90,92	-53,62	245,19	339,64
<b>Ornidazol + Est. Mg</b>	92,03	-24,86	230,08	399,52
<b>Ornidazol + CM 101</b>	91,75	-54,24	244,83	135,73
<b>Ornidazol + PVP</b>	89,08	-15,89	260,68	471,76

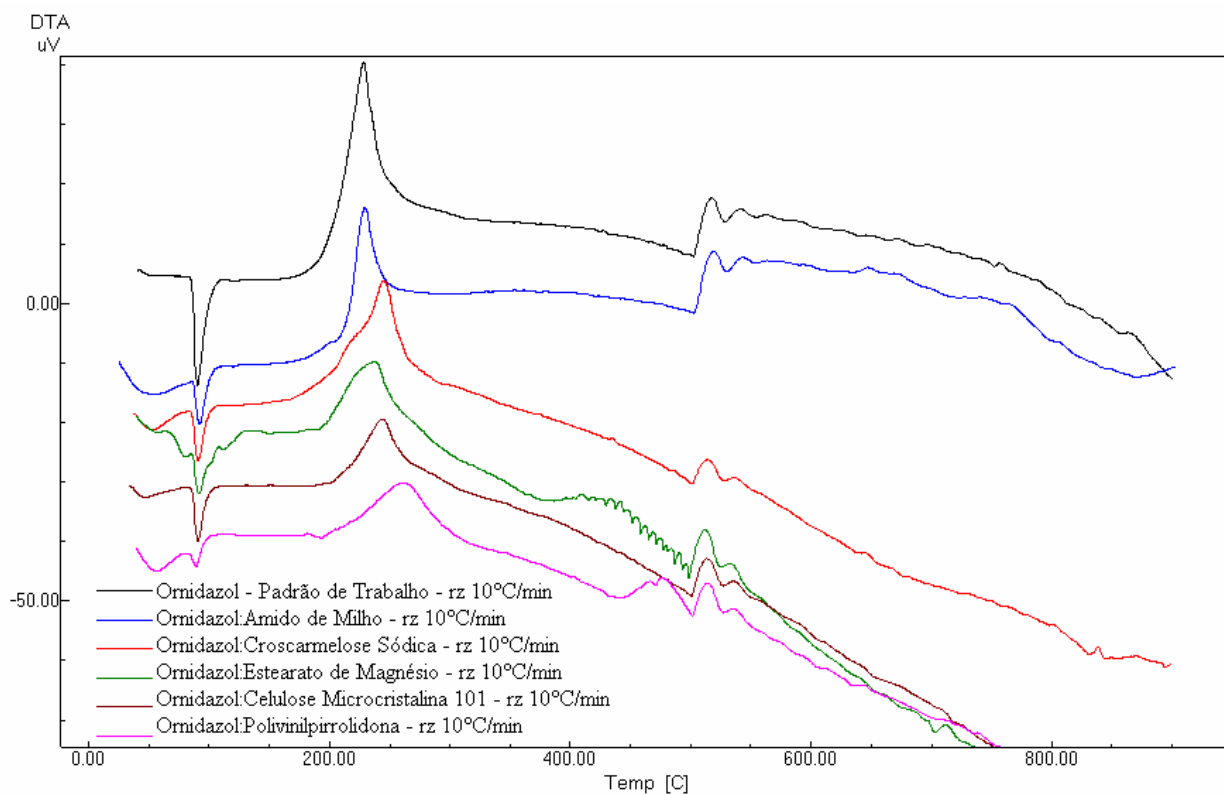


Figura 5. Curvas de DTA do fármaco ornidazol e respectivas misturas binárias

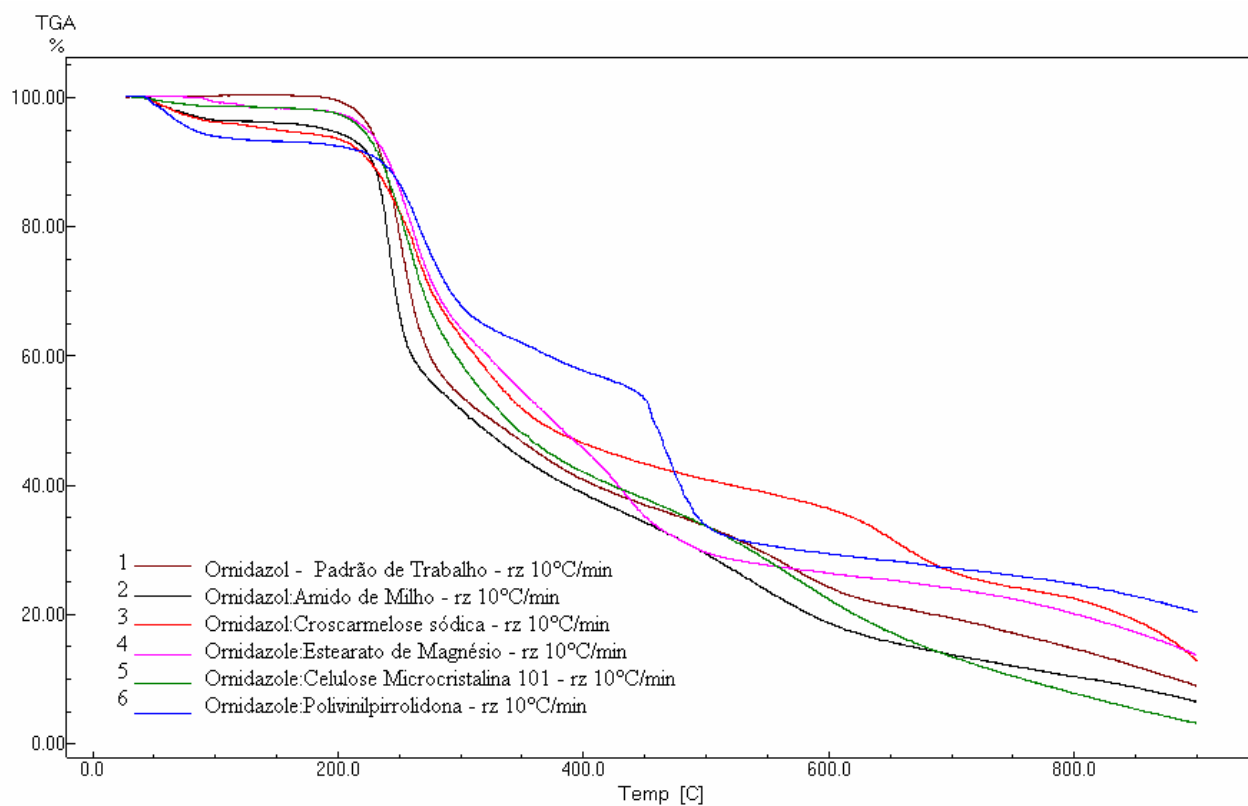


Figura 6. Curvas de TG do fármaco ornidazol e respectivas misturas binárias

## Caracterização Térmica do Produto Acabado

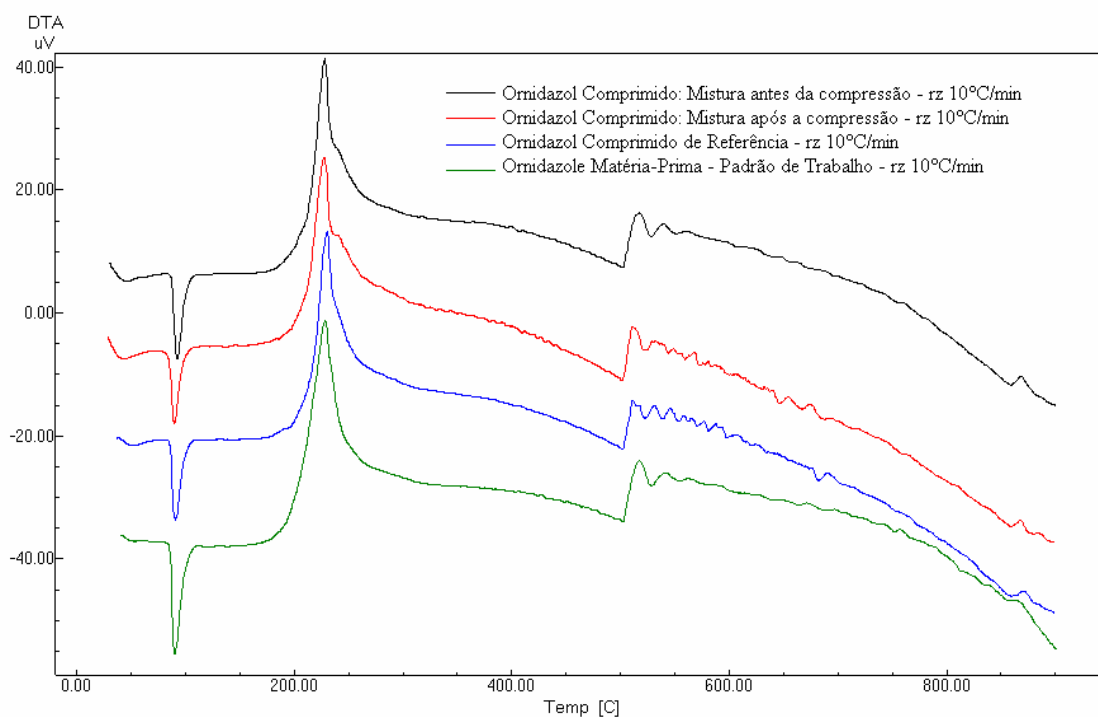


Figura 7. Curvas de DTA da mistura antes da compressão, após a compressão e comprimido de referência

Tabela 2. Parâmetros calorimétricos do ornidazol produto acabado.

Amostra	DTA Pico	DTA $\Delta H$	DTA Pico	DTA $\Delta H$
	Fusão (°C)	Fusão (J/g)	Decomposição (°C)	Decomposição (J/g)
<b>Ornidazol</b>	90,45 <sup>a</sup>	- 122,43	228,17 <sup>b</sup>	514,36
<b>Mistura antes compressão</b>	92,26 <sup>a</sup>	-88,79	228,17 <sup>b</sup>	724,42
<b>Mistura após compressão</b>	89,95 <sup>a</sup>	-75,07	227,61 <sup>b</sup>	132,29
<b>Comprimido de Referência</b>	91,02 <sup>a</sup>	-86,61	230,34 <sup>b</sup>	498,23

<sup>a,b</sup> Letras iguais indicam que no nível de 5%, não há diferença significativa entre as respectivas médias entre as amostras analisadas.

Por meio dos resultados obtidos pode-se comprovar que o processo de compressão não alterou as propriedades térmicas da mistura de pós que compõem a forma farmacêutica, comprovando que o ornidazol não se fundiu durante o processo produtivo. Pode-se também avaliar que o perfil térmico do comprimido é muito similar ao do fármaco isolado e que os picos de fusão e decomposição não foram deslocados, o que confirma a ausência de interações físicas e químicas entre o fármaco ornidazol e os excipientes utilizados, agora não mais em misturas binárias e sim nas proporções reais de cada matéria-prima na formulação.

## **Conclusão**

As curvas de DTA evidenciaram que não houve deslocamento ou alteração do pico de fusão do ornidazol para todas as misturas binárias analisadas, para o pico de decomposição três misturas binárias apresentaram deslocamento de temperatura, porém não há incompatibilidade físico-química entre as misturas e sim uma interação física que não influencia na estabilidade da mistura não excluindo as possibilidades de tais excipientes serem utilizados como parte da formulação.

As curvas de TG evidenciaram que não houve alteração das características da principal etapa de decomposição do fármaco, para algumas das misturas binárias o início da etapa principal de degradação foi retardado para temperaturas mais elevadas, dados estes que se correlacionam com os obtidos pela técnica de DTA.

O estudo das características térmicas do produto acabado confirma a inexistência de interações entre o fármaco e os excipientes analisados, agora nas proporções reais de uso na forma farmacêutica e processo produtivo.

## Referências

LIRA, A. M. et al. Compatibility studies of lapachol with pharmaceutical excipients for the development of topical formulations. **Thermochimica Acta**, Amsterdã, v. 457, n. 1-2, p. 1-6, jun. 2007.

KITAMURA M., SUGIMOTO M. Anti-solvent crystallization and transformation of thiazole derivative polymorphs—I: effect of addition rate and initial concentrations. **Journal of Crystal Growth**, v. 257, n. 1-2, p. 177–184, set. 2003.

MACEDO, R. O; NASCIMENTO, T. G. Quality control of thiabendazole pré-formulation and tablets by TG and DSC coupled to the photovisual system. **Thermochimica Acta**, Amsterdã, v. 392-393, p.85-92, set. 2002.

SINGH, P. et al. Ornidazole: Comprehensive Profile. **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**, Boston, 30, p. 123-184. 2003.

SOUZA, F. S; MACEDO, R. O.; VERAS, J. W. E. Studies of cimetidine pre-formulated and tablets for TG and DSC coupled to the photovisual system. **Thermochimica Acta**, Amsterdã, v. 392–393, p. 99–106, set. 2002.

TOMASSETTI, M. et al. Thermal analysis study of the interactions between acetaminophen and excipients in solid dosage forms and in some binary mixtures. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, Amsterdã, v. 37, n. 5, p. 949-955, abr. 2005.

# Capítulo III

## 5 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

### 5.1 Artigo V: **Desenvolvimento de Método Cromatográfico para Controle de Qualidade do Ornidazol Matéria-Prima**

*Artigo a ser submetido*

### 5.2 Artigo VI: **Determinação de Ornidazol em Comprimidos por Espectrofotometria no Ultravioleta: Desenvolvimento e Validação de Método Analítico**

*Artigo a ser submetido*

### 5.3 Artigo VII: **Desenvolvimento e Validação do Método Analítico aplicado ao Teste de Dissolução do Ornidazol Comprimido**

*Artigo a ser submetido*

### 5.1 Artigo V: **Desenvolvimento de Método Cromatográfico para Controle de Qualidade do Ornidazol Matéria-Prima**

Monica Felts de La Roca, José Lamartine Soares Sobrinho, Severino Grangeiro Júnior, Keyla Emanuelle Ramos da Silva, Pedro José Rolim Neto\*.

Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - LTM - UFPE

#### **Abstract**

The analytical method of High Performance Liquid Chromatography (HPLC) for the assay of ornidazole raw material and correlated chemical substances was developed and validated following the all requirements of the regulatory agencies. The method used mobile phase [metanol:ultra-pure water acidified 0,05% by acid fosforic (20:80)]; C<sub>18</sub> column, 150 x 4,6 mm di; particle 5 µm and λ 318 nm. The statistical analysis of the obtained results demonstrated that the method fits all satisfactory parameters to be considered a safe and efficient analytical method to the determination of purity of the raw material, being useful for qualification of suppliers in the pharmaceutical industry.

**Key-words:** Development, Analytical Method; Validation; Liquid Chromatography, Correlated Chemical Substances, Drug.

---

\* Endereço para Correspondência: Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM. Departamento de Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária, Recife – PE. 50740-521. Tel/Fax (81) 3272-1383. E-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

## Introdução

O desenvolvimento de um método cromatográfico deve ser realizado de maneira racional visando a sua confiabilidade, aplicabilidade e baixo custo. Visto que as aproximações individuais podem exibir uma diversidade considerável, o desenvolvimento do método segue freqüentemente uma série de etapas (SNYDER; KIRKLAND; GLAJCH, 1997).

Todo método desenvolvido e não descrito em farmacopéia ou formulários oficiais deve ser submetido ao processo denominado de validação, para garantir que este novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra. A validação de um método é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento e transferência (BRASIL, 2003; INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005; RIBANI et al., 2004).

Diversos métodos analíticos aplicados a quantificação do fármaco ornidazol por meio da técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) encontram-se reportados na literatura científica internacional, sendo estes aplicáveis a matéria-prima, formas farmacêuticas e matrizes biológicas. Krishnaiah e colaboradores (2003a) quantificaram o ornidazol na forma farmacêutica comprimido; Kale, Naidu e Shingare (2003) quantificaram simultaneamente o ornidazol e a norfloxacin em forma farmacêutica; Li e colaboradores (2003) e Krishnaiah e colaboradores (2003b) quantificaram o ornidazol em plasma humano; Bakshi e colaboradores (2001) avaliaram a degradação do ornidazol matéria-prima por meio de condições de stress e desenvolveram um método indicativo de estabilidade e Xu e colaboradores (2006) avaliaram a compatibilidade da forma farmacêutica injetável contendo ornidazol e cefotaxima sódico.

Contudo, não há descrito na literatura um método analítico capaz de quantificar simultaneamente o ornidazol e suas substâncias químicas correlacionadas (SQC), substâncias estas que são inerentes a matéria-prima, pois são oriundas da rota de síntese da mesma. Tais substâncias são consideradas impurezas.

Um método capaz de quantificar tais substâncias correlacionadas poderá ser utilizado tanto para a determinação da pureza do ornidazol, fator imprescindível para a qualidade do produto final, quanto para a qualificação do fornecedor de matéria-prima, procedimento indispensável para o atendimento as Boas Práticas de Laboratório (BPL).

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento e validação de método analítico para a quantificação simultânea do ornidazol e suas SQC pela técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).



## **Materiais e Métodos**

### **Matérias-primas, Reagentes e Equipamentos**

Para o desenvolvimento do método analítico utilizou-se a matéria-prima ornidazol oriunda de três diferentes fornecedores (A, B e C) e para a validação do método analítico utilizou-se ornidazol matéria-prima do fornecedor Supor Pharmaceuticals Co. LTDA, Lote: 20060405 e padrão de trabalho do fornecedor Supor Pharmaceuticals Co. LTDA, Lote: 20060401. Os materiais e reagentes utilizados no estudo foram: metanol grau UV-HPLC, das Marcas J.T Baker<sup>®</sup> e Vetec<sup>®</sup>; Água Ultra-Pura obtida através de Sistema Milli-Q<sup>®</sup>; Ácido Fosfórico Vetec<sup>®</sup>; Unidade Filtrante Millex<sup>®</sup> com porosidade de 0,45 µm e Coluna Cromatográfica Shim-Pack<sup>®</sup> ODS com empacotamento C<sub>18</sub>, 150 x 4,6 mm Ø, partícula 5 µm - (Lote: M<sup>o</sup> 4157111 e Lote: M<sup>o</sup> 4157010). Os equipamentos utilizados foram: Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Shimadzu<sup>®</sup>, com Detector de arranjo de iodo e software Class –VP composto pelos seguintes módulos: bombas LC – 10 ADVP, autoinjeter SIL – 10 ADVP, detector SPD – M10 AVP, controlador SCL – 10 AVP, forno CTO – 10 AVP e degaseificador DGU – 14 A.; Balança Sartorius CP 225 D, com capacidade máxima de 225g; Ultra sonic Branson<sup>®</sup>, modelo: 2510 e Sistema Milli-Q<sup>®</sup> *academic* da Millipore<sup>®</sup>. Utilizaram-se vidrarias volumétricas calibradas com certificado de calibração por lote do fabricante Brand<sup>®</sup>.

### **Desenvolvimento do método analítico**

Analisou-se as matérias-primas (A, B e C), por meio da injeção de 1000 µg/mL do ornidazol afim de sobressair as substâncias correlacionadas. Realizou-se uma varredura no ultravioleta objetivando identificar o comprimento de onda de maior absorbância para todas as substâncias verificadas no estudo.

Visando o desenvolvimento racional do método analítico, analisou-se a influencia da variação da temperatura do forno (25° a 40°C), coluna analítica: C<sub>8</sub> e C<sub>18</sub>, diferentes proporções da fase móvel composta por metanol e água ultra-pura (45:55 e 20:80), além da influencia da acidificação da água ultrapura pertencente a fase móvel com 0,05% de ácido fosfórico.

A performance do sistema cromatográfico foi avaliada a partir dos seguintes parâmetros: número de pratos teóricos, fator de cauda, tempo morto da coluna e desvio padrão relativo das áreas das replicatas dos picos. Observando-se os cromatogramas obtidos. Afim de garantir boa reprodutibilidade do método, a eficiência da coluna não deve ser menor que 2000 pratos teóricos, o fator de cauda deve estar entre 0,9 a 2 e o desvio padrão relativo das áreas das replicatas dos picos registrado não deve ser maior do que 2%.

O tempo morto da coluna foi analisado após o desenvolvimento do método analítico, por meio da injeção do uracil, nas mesmas condições cromatográficas estabelecidas. O uracil, não possui afinidade pela fase móvel e pela coluna, fator determinante para a justificar a sua utilização.

### **Validação do método analítico**

#### **Preparação da solução amostra e padrão**

Amostras de 25 mg do ornidazol matéria-prima ou padrão de trabalho foram pesados, diluídos em balão volumétrico de 25 mL com solução diluente de metanol:água ultra-pura (20:80), e sonicados por 5 minutos. Foi realizada a aferição do volume, a homogeneização e a filtração em membrana com porosidade 0,45 µm, obtendo-se uma concentração final de 1000 µg/mL. Em seguida as amostras, preparadas em sextuplicatas, foram transferidas para o frasco.

#### **Parâmetros avaliados na Validação do Método**

##### **Robustez:**

Para a realização da robustez foram avaliados a influência do lote da coluna cromatográfica C<sub>18</sub> (Shim-Pack<sup>®</sup>, Lote: M<sup>o</sup> 4157111 e Lote: M<sup>o</sup> 4157010); a temperatura do forno (29°C, 30°C e 31°C); o fluxo da fase móvel (0,98 mL/min, 1,00 mL/min e 1,02 mL/min); tempo de sonicação das soluções (4 min, 5 min e 6 min) e a marca do solvente metanol (J. T. Baker<sup>®</sup> e Vetec<sup>®</sup>). Os parâmetros foram avaliados por meio da área do pico e deslocamento do pico.

### **Linearidade**

A preparação da curva de linearidade foi realizada a partir de três curvas autênticas, nas concentrações de 500 µg/mL, 800 µg/mL, 1000 µg/mL, 1200 µg/mL e 1500 µg/mL de ornidazol. Os resultados foram tratados estatisticamente pelo método dos mínimos quadrados, obtendo-se a regressão linear. A faixa de variação testada correspondeu entre 50 a 150% da concentração em teste, sendo o intervalo entre os limites de quantificação superior e inferior do método.

### **Precisão**

A precisão foi avaliada em dois níveis: precisão intra-corrída (repetitividade) e a precisão inter-corrídas (precisão intermediária). Para a repetitividade, réplicas de 6 determinações a 100% da concentração teste foram preparadas. Para a precisão intermediária, réplicas da concentração teste foram testadas em dias diferentes e com analistas diferentes.

### **Exatidão**

A exatidão foi avaliada verificando a proximidade dos resultados obtidos em relação ao valor verdadeiro. As matéria-primas de ornidazol foram manipulados para obtenção das concentrações a 50%, 100% e 150% da concentração de referência (1000 µg/mL).

## **Resultados e Discussão**

### **Desenvolvimento do método analítico**

Após a análise das amostras da matéria-prima ornidazol (A, B e C) pôde-se comprovar que cada matéria-prima apresentou diferenças com relação a qualidade e quantidade de substâncias químicas correlacionadas (SQC-A – 2-metil,5-nitro-imidazol) (Figuras 1, 2 e 3). Com base nesta constatação, definiu-se de forma aleatória a matéria-prima de um destes fornecedores (Fornecedor B) e desenvolveu-se um método analítico capaz de quantificar simultaneamente o ornidazol e as SQC, por meio de uma solução concentrada de ornidazol a 1000 µg/mL.

O teor de ornidazol, para aprovação, teve que apresentar-se entre 98 a 101%, e a soma de todos os picos e ruídos correlacionados, não pode ultrapassar 2% do teor total, para que a qualidade da matéria-prima fosse considerada satisfatória e esta possa ser submetida ao processo de produção de medicamentos.

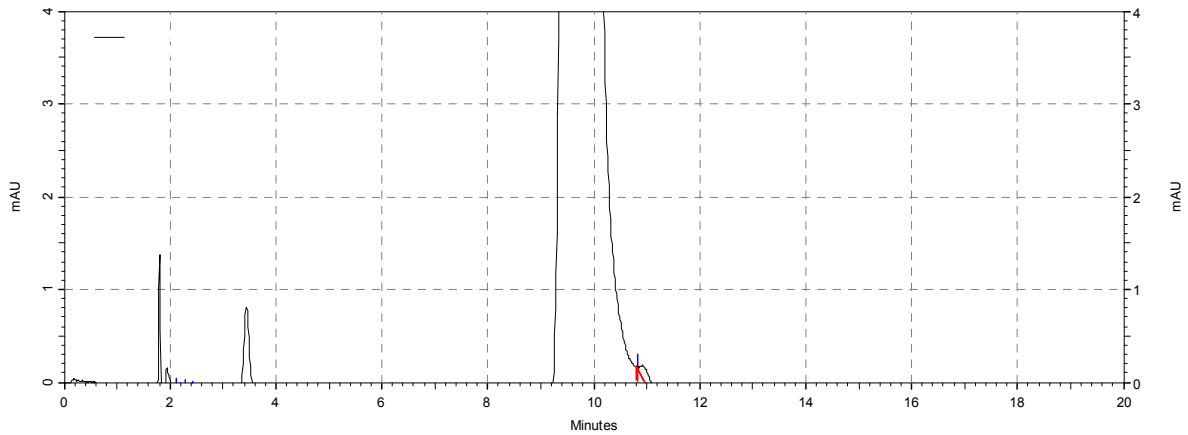


Figura 1. Cromatograma do ornidazol matéria-prima na concentração de 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , fornecedor A, com escala extrapolada em 4 mAU e tempo de corrida de 20 minutos.

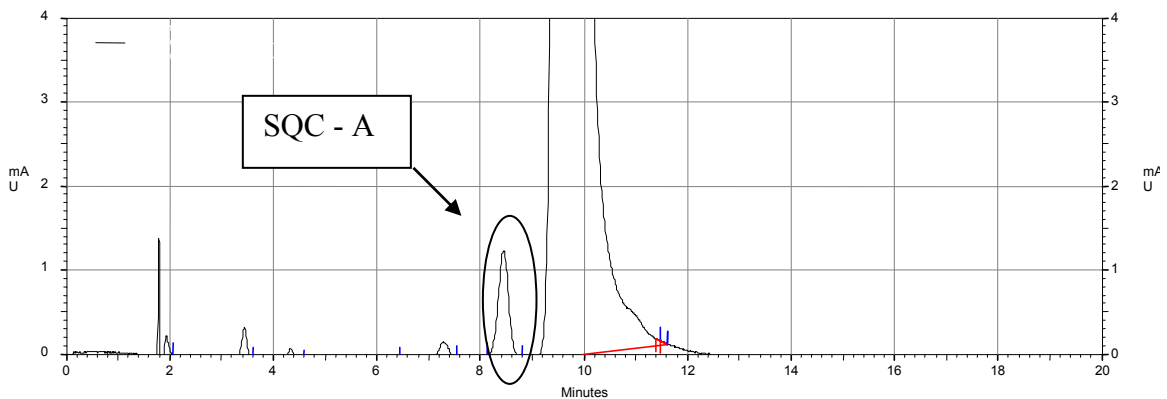


Figura 2. Cromatograma do ornidazol matéria-prima na concentração de 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , fornecedor B, com escala extrapolada em 4 mAU e tempo de corrida de 20 minutos.

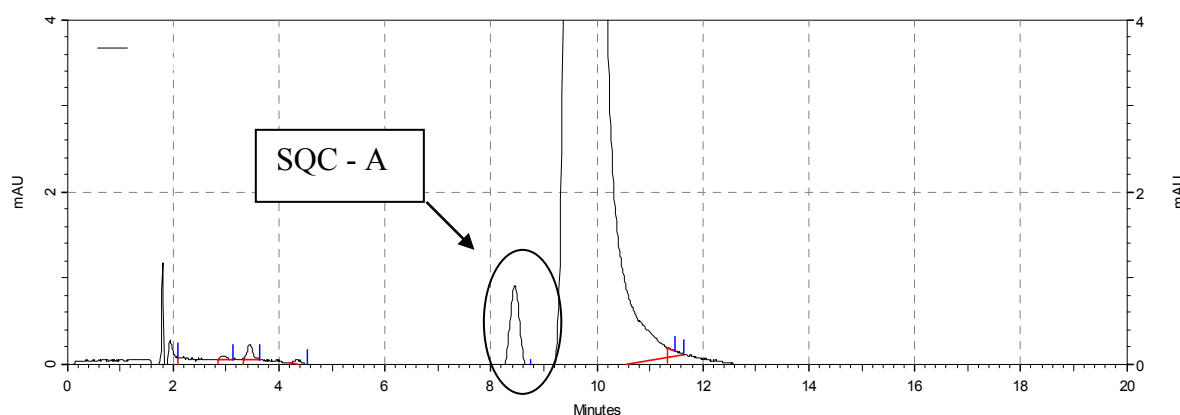


Figura 3. Cromatograma do ornidazol matéria-prima na concentração de 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , fornecedor C, com escala extrapolada em 4 mAU e tempo de corrida de 20 minutos.

Após a avaliação dos resultados preliminares, considerando-se os fatores: resolução do pico, tempo de retenção, pratos teóricos e resolução, as condições cromatográficas definidas a partir do desenvolvimento do método foram: fluxo de 1 mL/min,  $\lambda$  318 nm, temperatura do forno de 30°C, uma vez que a temperatura não influenciou a resolução do pico, volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$ , fase móvel metanol:água ultra-pura:ácido fosfórico (20:80:0,05) e a fase estacionária selecionada foi a coluna analítica C<sub>18</sub> Shim-Pack® (150 x 4,6 mm; partícula 5  $\mu\text{m}$ ), justificando uma melhor resolução devido ao seu grupamento octadecilsilano. A fase reversa pela sua natureza é apolar e a fase móvel devido a grande quantidade de água comporta-se de forma polar.

O ornidazol apresenta baixa polaridade, apresentando um tempo de eluição de aproximadamente 10 minutos. A acidificação da fase móvel aumenta a força de interação deste analítico com a fase estacionária. Além disso, o menor comprimento e tamanho de partícula são resultados do desenvolvimento tecnológico das colunas que visam o melhor desempenho cromatográfico.

As amostras foram preparadas por meio de uma única diluição, tendo como diluente a fase móvel não acidificada. Embora a amostra apresente baixa solubilidade em água a pequena concentração de metanol no diluente foi o suficiente para solubilizar bem a amostra não necessitando desta forma um diluente com uma quantidade maior de metanol visando a redução de custo para a análise. O cromatograma obtido com esta fase móvel registrou picos simétricos do analíto, apresentando tempo de corrida em torno de 14 minutos, tempo este necessário para eluir todas substâncias correlacionadas. Esta metodologia é considerada

adequada para a análise da matéria-prima ornidazol e para a qualificação de fornecedores (Figura 4).

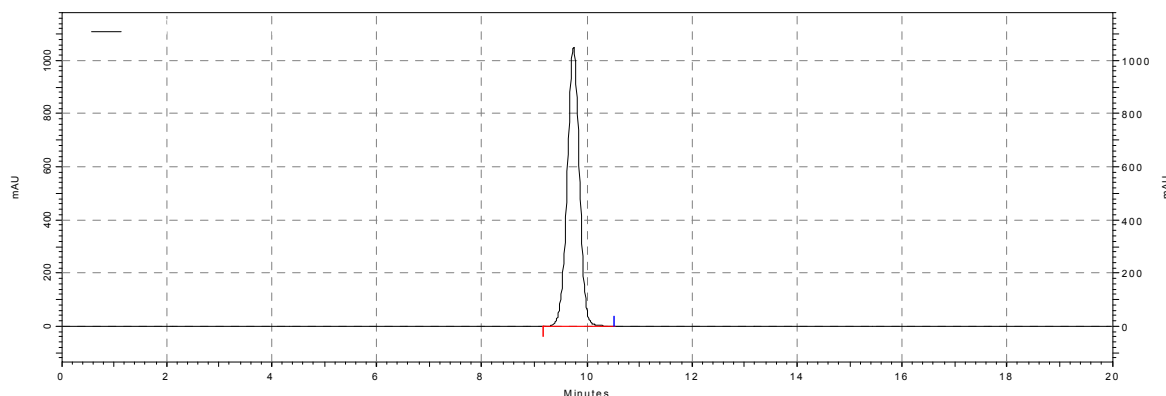


Figura 4. Cromatograma normalizado do ornidazol matéria-prima, fornecedor A

Comprova-se a alta seletividade e eficiência da coluna cromatográfica empregada por meio do resultado de pratos teóricos obtido, sendo este de 6456,11; a adequada definição e assimetria do pico se comprova pelo resultado de fator de cauda obtido, sendo este de 0,95 e o fator de capacidade, calculado a partir de dados obtidos por meio da análise do uracil, resultou em um valor de 3,58.

### Validação do método analítico

#### Robustez

Os resultados obtidos pelas pequenas e deliberadas modificações aplicadas ao método desenvolvido demonstraram que o mesmo se apresentou robusto para todos os parâmetros avaliados.

Por análise de variância fator único, os valores de  $F$  calculados para a variação do tempo de sonicação das soluções, temperatura do forno e fluxo da fase móvel (2,908; 0,144 e 0,5161; respectivamente) foram inferiores ao  $F$  tabelado (5,143) e, utilizando teste  $t$ -Student, para a variação do lote da coluna cromatográfica e marca do solvente, o valor de  $t$  calculado (0,989 e 0,944) foi inferior ao  $t$  tabelado (2,776), comprovando que não houve diferenças estatisticamente significativas, com 95% de confiança.

### **Linearidade**

O método se mostrou linear, para a faixa de variação entre 50 a 150%, como se pode comprovar através dos resultados dos pontos das três curvas de linearidade autênticas plotados em um gráfico, a concentração de ornidazol em  $\mu\text{g/mL}$  versus a absorbância Y, através do método dos mínimos quadrados origina a equação da reta  $y = 341637x + 656515$ , seguindo a Análise de Variância, tem-se que o  $R^2$  máximo explicável é de 0,9998. Houve uma regressão estatisticamente significativa e sem falta de ajuste, proporcionando uma curva linear, ainda como resultado da avaliação da linearidade do método.

O coeficiente de variação (cv) para cada ponto analisado foi de 1,16; 1,14; 1,15; 1,20 e 1,25; respectivamente para 500, 800, 1000, 1200 e 1500  $\mu\text{g/mL}$  e o slope, coeficiente de variação de a, coeficiente angular, foi de 1,33; demonstrando além da linearidade do método que este é preciso em todas as concentrações analisadas.

### **Precisão**

Para o ensaio da precisão, a repetitividade de seis réplicas autênticas na concentração de 100%, apresentou-se como resultado a média de 99,90556%, com desvio padrão relativo de 0,5996%, atendendo a resolução vigente (BRASIL, 2003). Outro ensaio de precisão, a intermediária, foi testada entre dias e analistas diferentes, tendo como resultado do tratamento estatístico por *t*-Student, o valor de *t* calculado (1,145 e 1,646) foi inferior ao *t* tabelado (3,862), comprovando que não houve diferenças estatisticamente significativas, com 95% de confiança, confirmando que o método foi preciso entre dias e analistas.

### **Exatidão**

Por fim, o método se mostrou além de específico, exato, visto que, após o tratamento estatístico por teste *t*-Student entre as médias, obteve-se para as concentrações 50, 100 e 150% valores médios de recuperação de 50,37%, 100,38% e 149,56% respectivamente, estes dados tratados estatisticamente originaram valores de *t* calculado de 2,2489; 1,2092; 0,5199 respectivamente, sendo estes inferiores ao valor de *t* tabelado (4,303), com 95% de confiança.

### **Análise do Ornidazol Matéria-Prima**

Pode-se constatar com as análises das matérias-primas ornidazol oriunda de três diferentes fornecedores que qualitativamente tem-se uma diferença em relação as SQC eluídas nas amostras. Porém, quantitativamente esta diferença pode ser considerada mínima devido as baixas concentrações em que as SCQ apresentaram-se. Pode-se considerar que tais concentrações evidenciadas de SQC não são prejudiciais a qualidade do produto final.

Todas as matérias-primas analisadas encontraram-se dentro das especificações, sendo a concentração de ornidazol de 99,69%; 99,22%; 99,28% e 100,10% respectivamente para os fornecedores A, B, C e padrão.

### **Conclusão**

Diante dos resultados apresentados pode-se afirmar que o método desenvolvido e devidamente validado tornou-se uma alternativa analítica para a quantificação do ornidazol e suas respectivas SQC, alternativa inédita na literatura, podendo a partir de então ser empregado pelas indústrias farmacêuticas na qualificação dos fornecedores desta matéria-prima, requisito fundamental para o atendimento as Boas Práticas de Fabricação.



## Referências

BAKSHI, M. et al. The ICH guidance in practice: stress degradation studies on ornidazole and development of a validated stability-indicating assay. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**; Oxford, v. 26, n.5-6, p.891-897, dez. 2001.

BRASIL, Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 jun. 2003.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION: ICH Harmonised Tripartite Guideline. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)**, nov. 2005.

KALE, U. N.; NAIDU, K. R.; SHINGARE, M. S. Simultaneous determination of norfloxacin and ornidazole in pharmaceutical dosage by RPHPLC. **Indian Drugs**, Bombay, v. 40, n. 7, p. 397-400. 2003.

a KRISHNAIAH et al. Development and validation of a reversed-phase HPLC method for the analysis of ornidazole in pharmaceutical dosage forms. **Asian Journal of Chemistry**, Weinheim, v. 15, n. 2, p. 925-929, 2003.

b KRISHNAIAH et al. Reverse-phase HPLC method for the estimation of ornidazole in human plasma. **Asian Journal of Chemistry**, Weinheim, v. 15, n. 2, p. 941-944, 2003.

LI, Q. et al. Determination of ornidazole in plasma by HPLC and study on its pharmacokinetics. **The Chinese Pharmaceutical Journal**, Taipei, v. 38, n. 9, p. 690-2, 2003.

RIBANI, M. et al. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 771-780, set./out.2004.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC Method Development**, 2. ed., Indianapolis: John Wiley and Sons, 1997. p. 1.

XU, J. P. et al. Stability of compatibility of ornidazole injection and cefotaxime sodium for injection. **Pharmaceutical Care and Research**, Shanghai, v. 6, n. 2, p. 136-138, 2006.

## 5.2 Artigo VI: **Determinação de Ornidazol em Comprimidos por Espectrofotometria no Ultravioleta: Desenvolvimento e Validação de Método Analítico**

Monica Felts de La Roca, José Lamartine Soares Sobrinho, Severino Grangeiro Júnior, Keyla Emanuelle Ramos da Silva, Pedro José Rolim Neto\*.

Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - LTM – UFPE

### **Resumo**

O método analítico por espectrofotometria no UV-VIS para o doseamento de comprimidos a base de ornidazol foi desenvolvido e validado seguindo as recomendações das agências regulatórias. O método utiliza uma concentração final do soluto para leitura de 10 µg/mL em água destilada e um comprimento de onda de 320 nm selecionado a partir de uma varredura espectrofotométrica. A análise estatística dos resultados obtidos demonstraram que o método atende satisfatoriamente a todos os parâmetros necessários e pode ser considerado uma alternativa analítica segura, eficiente e de baixo custo para a rotina laboratorial da indústria farmacêutica.

**Palavras-Chave:** Desenvolvimento; Validação; Ornidazol; Método Analítico; Espectrofotometria.

### **Introdução**

O antimicrobiano ornidazol, derivado dos 5-nitroimidazólicos, atua seletivamente em bactérias anaeróbicas e protozoários. Apresenta-se na forma de pó cristalino, com coloração branca a levemente amarelada, odor suave e pouco perceptível. Praticamente insolúvel em solventes apolares e muito solúvel em solventes de alta a moderada polaridade (SINGH et al., 2003; WANG et al., 2004).

---

\* Endereço para Correspondência: Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM. Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco. Av Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária, Recife – PE. 50740-521. Tel/Fax (81) 3272-1383. E-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

Diversos métodos analíticos para a quantificação do ornidazol encontram-se reportados na literatura científica internacional, sendo estes aplicáveis a matéria-prima, formas farmacêuticas e matrizes biológicas. Estes métodos utilizam diversas técnicas como eletroquímica (KNOX; EDWARDS; KNIGHT, 1984; ÖZKAN; SENTURK; BIRYOL, 1997; TOCHER; EDWARDS, 1988; YARLETT et al., 1985), espectrofotometria de UV-Visível (MANJUNATH; RAVI; RAJU, 2000; MRUTHYUNJAYASWAMY; PATIL; RAJU, 2004; SARSAMBI; RAJU, 2002;), cromatográfica gasosa (BHATIA; SHANBHAG, 1984) e líquida (BAKSHI et al., 2001; KRISHNAIAH et al., 2003a; KRISHNAIAH et al., 2003b; LI et al., 2003; XU et al., 2006).

Apesar da existência de diversos métodos analíticos publicados, a técnica de espectrofotometria de UV-VIS tem sido utilizada apenas para a quantificação do ornidazol por meio de reações colorimétricas, com leitura em comprimento de onda no visível. O método desenvolvido e validado descrito permite a quantificação do ornidazol por meio de um comprimento de onda no ultravioleta, conferindo praticidade, confiabilidade e baixo custo para a utilização na rotina laboratorial da indústria farmacêutica.

A validação de método analítico consiste na confirmação por exame e fornecimento de evidências objetivas de que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido são atendidos. Esta necessidade de se demonstrar a qualidade de medições químicas, através de sua confiabilidade e rastreabilidade se faz obrigatório uma vez que o fármaco não apresenta monografia farmacopeica oficial reconhecida pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, 2001; BARROS, 2002; BEDOR et al., 2004; BRASIL, 2003a; BRASIL, 2003b; CURRIE, 1999; DANZAR; OTTO; CURRIE, 2004; EUROPEAN COMMISSION, 2000; INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION, 2005; RIBANI et al., 2004; SOARES SOBRINHO et al., 2005; THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002; UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, 2000; UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION, 2006).

Diante do exposto, este trabalho teve por objetivo o desenvolvimento e validação de método analítico para doseamento de comprimidos revestidos a base de ornidazol 500 mg de acordo com os preceitos dos órgãos regulatórios nacionais e internacionais.

## Material e Métodos

Reagentes e Amostras: Para a realização deste trabalho utilizou-se: Metanol (Fornecedores: Vetec e J.T.Baker); Água destilada; Ornidazol Matéria-prima (Fornecedor Zhejiang Supor Pharmaceuticals Co. LTDA – Lote 20060405), Ornidazol padrão de trabalho (Fornecedor: Zhejiang Supor Pharmaceuticals Co. LTDA – Lote 20060401) e comprimidos de Ornidazol desenvolvidos no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Equipamentos e Condições Analíticas: Espectrofotômetro da marca Vankel 50 UV-Visível Carry- Win-UV; Ultra-som marca Branson modelo 2510; Balança Analítica Sartorius modelo CP 225D.

Preparo das Soluções Padrão: Pesou-se exatamente 25 mg do padrão de trabalho do ornidazol para balão volumétrico (bv) de 25 mL, adicionou-se aproximadamente 20 mL da solução diluente metanol:água destilada (45:55) ao bv e sonicou-se por 10 minutos, completou-se o volume com a solução diluente, pipetou-se 1 mL para bv de 100 mL e completou-se com água destilada, obtendo-se uma concentração final de 10 µg/mL.

Preparo das Amostras: Pesou-se 20 comprimidos de ornidazol 500 mg e se calculou o peso médio, triturou-se os comprimidos e pesou-se exatamente ao equivalente a 100 mg de ornidazol para um balão volumétrico (bv) de 100 mL, adicionou-se aproximadamente 90 mL de solução diluente metanol:água destilada (45:55) ao bv, sonicou-se por 10 minutos e completou-se o volume com a solução diluente; pipetou-se 1 mL para bv de 100 mL e completou-se com água destilada, obtendo-se uma concentração final de 10 µg/mL.

### *Desenvolvimento do Método Analítico*

Foram realizados testes com diversos solventes (água, ácido clorídrico 0,1 M e metanol) e misturas dos mesmos em diferentes proporções afim de escolher uma melhor solução diluente para utilização no método analítico, além de proceder varreduras no espectrofotômetro na faixa de 200 a 400 nm para escolha do comprimento de onda mais adequado.

### *Validação do Método Analítico*

**Linearidade:** Este ensaio foi realizado com a análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios de três curvas autênticas com cinco pontos nas concentrações de 2,5 µg/ml, 5,0 µg/mL, 7,5 µg/mL, 10 µg/mL, 12,5 µg/mL e 15 µg/mL do padrão de trabalho de ornidazol. O coeficiente de correlação obtido foi a partir da média das três curvas.

**Precisão:** A precisão foi determinada através dos métodos de repetitividade e precisão intermediária. A repetitividade foi determinada pela análise de amostras individuais em sextuplicata. A precisão intermediária foi determinada em dois dias por dois analistas diferentes.

**Exatidão:** Foram preparadas três amostras, cada uma nas concentrações de 50%, 100% e 150% da concentração teórica do ornidazol. Em seguida, cada amostra foi analisada em triplicata.

**Especificidade:** Um placebo do comprimido de ornidazol foi analisado pela técnica descrita.

**Limite de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ):** Para se realizar o LD e LQ foi considerado o desvio padrão da reta com relação à absorbância do primeiro nível de concentração (2,5 µg/mL) de ornidazol nas três curvas de calibração e seus coeficientes angulares.

**Robustez:** O ensaio foi determinado a partir da variação dos seguintes parâmetros: marca do solvente (Vetec e J.T Baker), tempo de sonicação (8 min, 10 min, 12 min) e influência da luz (presença e ausência de luminosidade). Foram realizadas análises de amostras em quadruplicata para todos os parâmetros da robustez.

## Resultados e Discussão

### *Desenvolvimento do Método Analítico*

Para a escolha do solvente e do comprimento de onda, levou-se em consideração a capacidade de solubilização do ativo por meio da solução diluente e a especificidade do comprimento de onda frente aos componentes utilizados na formulação do comprimido. O comprimento de onda selecionado foi de 320 nm e o sistema solvente foi metanol: água destilada (45:55) para a primeira diluição e água destilada para a segunda diluição (Figura 1).

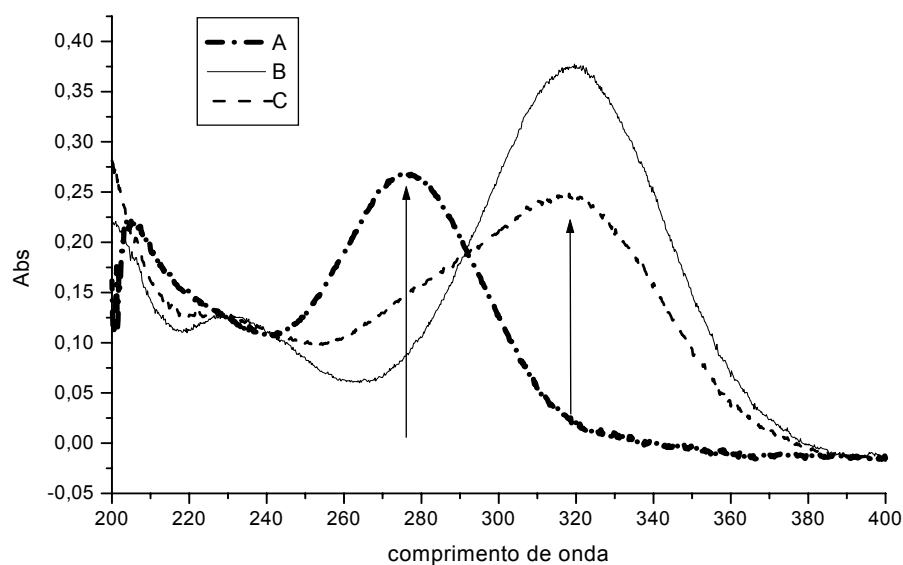


Figura 1. Varredura espectrofotométrica do ornidazol em diferentes misturas de solventes.

A curva A apresenta primeira e segunda diluição em HCl 0,1M, a curva B apresenta primeira diluição em metanol: água destilada (45:55) e a segunda em água destilada e a curva C apresenta primeira diluição em HCl 0,1M e a segunda em água destilada.

### *Validação do Método Analítico*

**Especificidade:** Obteve-se absorvâncias não significativas nas leituras das amostras placebo, com uma média de 0,0015 abs. Colaborando para a confirmação de não interferência dos excipientes da formulação de comprimido de ornidazol no método em questão.

**Linearidade:** O método se mostrou linear, para a faixa de variação entre 25 a 150% da concentração referência, conforme a equação da reta, onde  $y = 0,0042 x - 0,0033$ , seguindo a Análise de Variância, tem-se que o  $R^2$  máximo foi de 0,9999. Houve uma regressão estatisticamente significativa e sem falta de ajuste, proporcionando uma curva linear. Ainda como resultado da avaliação da linearidade do método, calculou-se o LQ 4,28  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e o LD 1,28  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

O coeficiente de variação (cv) para cada ponto analisado foi de 1,78; 1,17; 1,06; 0,99; 0,43 e 1,26; respectivamente para 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5 e 15  $\mu\text{g}/\text{mL}$  e o slope, coeficiente de variação de a, coeficiente angular, foi de 0,48; demonstrando além da linearidade do método que este é preciso em todas as concentrações analisadas.

**Precisão:** **Repetitividade:** Nos ensaios de repetitividade foram realizadas seis determinações à concentração de 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , referentes a 100% da concentração onde obteve-se como resultado 100,32 % e coeficiente de variação de 0,23. Observando-se os resultados, podemos concluir que o método tem uma boa repetitividade, visto que o coeficiente de variação é inferior ao especificado pelos órgãos reguladores (5%). **Precisão Intermediária:** O estudo da precisão do método entre ensaios demonstrou que não há grandes diferenças entre as amostras pesquisadas individualmente em pequeno intervalo de tempo. A precisão entre dias e entre analistas foi verificada através do teste ANOVA One-Way que não houve diferença estatisticamente significativa com um nível de 95% de confiança, apresentando para a variação entre dias um F calculado de 0,65449 e F tabelado 3,862539 e para a variação entre analistas um F calculado 0,35021 de e F tabelado 3,862539.

**Exatidão:** A exatidão do método foi comprovada pelo estudo de três concentrações diferentes (50%, 100%, 150%) e o percentual de recuperação nas três concentrações analisadas foi de 50,46%, 100,27% e 148,42% respectivamente. O estudo estatístico aplicado foi o Teste t-Student o qual demonstrou que o T calculado (50%=1,7520; 100%=0,2726; 150%=2,9257) foi menor que o T tabelado (4,3030) comprovando que não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias das três concentrações analisadas com um intervalo de confiança de 95 %.

**Robustez:** Para o parâmetro tempo de sonicação das soluções estudadas, verificou-se através da ANOVA One-Way que não houve diferença estatisticamente significativa com um nível de 95% de confiança entre a média das concentrações, apresentando um F calculado de 2,8358 e F tabelado de 4,2564. Adotou-se, porém como modo de agitação a sonicação por 10 min, uma vez que as outras formas testadas não mostraram variação significativa. Para o segundo e terceiro parâmetros avaliados durante o estudo, influência da luz e marca de solvente, verificou-se estatisticamente através do Teste t-Student, para duas amostras, presumindo variâncias equivalentes, que não há diferença significativa entre os resultados, admitindo-se um nível de 95% de intervalo de confiança entre a média das absorbâncias, apresentando para influência de luminosidade um T calculado de 0,5758 e um T crítico de 2,4469, para marcas de solventes, apresentou um T calculado 1,3495 e T crítico de 2,4469. O método de doseamento para o comprimido de ornidazol é robusto, pois de acordo com os resultados obtidos, não apresentou diferença relevante nos parâmetros avaliados.

## **Conclusão**

O método desenvolvido é considerado como um método alternativo, por não constar descrito em farmacopéias ou formulários oficiais e em comparação com os métodos estudados na literatura científica internacional este método possui grandes vantagens devido a simplicidade e a rapidez de sua técnica de preparo. Os resultados obtidos mostram que o método atende aos requisitos de Boas Práticas Laboratoriais, pois apresenta sensibilidade, reprodutibilidade, precisão, robustez, linearidade e finalmente a confiabilidade requerida para um método analítico, constituindo uma alternativa analítica rápida, segura, eficaz e de baixo custo, requisitos importantes em uma rotina laboratorial.



## Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Requisitos Gerais para Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração**. NBR ISO/IEC 17025, 2005.

BAKSHI, M. et al. The ICH guidance in practice: stress degradation studies on ornidazole and development of a validated stability-indicating assay. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**; Oxford, v. 26, n.5-6, p.891-897, dez. 2001.

BARROS, C. B. Validação de Métodos Analíticos. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, p. 175-177, jul./dez. 2002.

BEDOR, D. C. G. et al. Validação de Método Analítico. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 68, p. 32-36, dez. 2004.

BHATIA, S. C; SHANBHAG, V. D. Electron-capture gas chromatographic assays of 5-nitroimidazole class of antimicrobials in blood. **Journal of Chromatography**, Amsterdã, v. 305, n. 2, p. 325-334, 1984.

a BRASIL, Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 jun. 2003.

b BRASIL, Resolução RE nº 210, de 04 de agosto de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Determina a todos os estabelecimentos fabricantes de medicamentos, o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 ago. 2003.

CURRIE, L. A. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection quantification capabilities (IUPAC Recommendations 1995). **Analytica Chimica Acta**, Amsterdã, v. 391, n. 2, p. 105-126, maio. 1999.

DANZAR, K.; OTTO, M.; CURRIE, L. A. Guidelines for Calibration in analytical Chemistry. Part 2. Multispecies Calibration. **Pure and Applied Chemistry**, Londres, v. 76, n. 6, p. 1215-1225, 2004.

EUROPEAN COMMISSION. **Guidance Document on Residue Analytical Methods**, SANCO/825/00, 2000.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION: ICH Harmonised Tripartite Guideline. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)**, nov. 2005.

KNOX, R. J.; EDWARDS, D. I.; KNIGHT, R. C. The mechanism of nitroimidazole damage to DNA: coulometric evidence. **International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics**, Elmsford, v. 10, n. 8, p. 1315-1318, 1984.

a KRISHNAIAH et al. Development and validation of a reversed-phase HPLC method for the analysis of ornidazole in pharmaceutical dosage forms. **Asian Journal of Chemistry**, Weinheim, v. 15, n. 2, p. 925-929, 2003.

b KRISHNAIAH et al. Reverse-phase HPLC method for the estimation of ornidazole in human plasma. **Asian Journal of Chemistry**, Weinheim, v. 15, n. 2, p. 941-944, 2003.

LI, Q.; ZHAO, Y.; LIANG, Y. G.; WANG, B. J.; Determination of ornidazole in plasma by HPLC and study on its pharmacokinetics. **The Chinese Pharmaceutical Journal**, Taipei, v. 38, n. 9, p. 690-2, 2003.

MANJUNATH, S.; RAVI, K. U. M.; RAJU, S. A. Spectrophotometric determination of ornidazol. **Asian Journal of Chemistry**, Weinheim, v. 12, n. 3, p. 797-800, 2000.

MRUTHYUNJAYASWAMY, B. H. M.; PATIL, S. M.; RAJU, S. A. Spectrophotometric determination of ornidazole. **Journal of the Indian Chemical Society**, Calcutta, v. 81, n. 4, p. 346-348, 2004.

ÖZKAN, A. S.; SENTURK, Z.; BIRYOL, I. Determination of ornidazole in pharmaceutical dosage base don reduction at an activated carbon electrode. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, v. 157, n. 2, p. 137-144, nov. 1997.

RIBANI, M. et al. Validation for chromatographic and electrophoretic methods. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 771-780, set./out. 2004.

SARSAMBI, P. S.; RAJU, S. A. Visible spectrophotometric determination of ornidazole from bulk drug and formulations. **Asian Journal of Chemistry**, Weinheim, v. 14, n. 1, p. 543-544, 2002.

SINGH, P. et al. Ornidazole: Comprehensive Profile. **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**, Boston, n. 30, p. 123-184, 2003.

SOARES SOBRINHO, J. L. et al. Validação de Metodologias Analíticas no Mercado Farmacêutico: Caso Paracetamol. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 73, p. 35-41, maio. 2005.

TOCHER, J. H.; EDWARDS, D. I. Electrochemical characteristics of nitro-heterocyclic compounds of biological interest. I. The influence of solvent. **Free Radical Research Communications**, Chur, v. 4, n. 5, p. 269-76, 1988

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. **Pure and Applied Chemistry**, Londres, v. 74, n. 5, p. 835-855, 2002

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for Industry, Analytical Procedures and Methods Validation**, 2000.

UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION. Validation of Compendial Methods. In: **US Pharmacopeia**, 29. ed., Rockville, 2006. cap. 1225.

WANG, M. et al. Heat capacity and thermodynamic properties of crystalline ornidazole ( $C_7H_{10}ClN_3O_3$ ). **Thermochemica Acta**, Amsterdã, v. 414, p. 25-30, 2004.

XU, J. P. et al. Stability of compatibility of ornidazole injection and cefotaxime sodium for injection. **Pharmaceutical Care and Research**, Shanghai, v. 6, n. 2, p. 136-138, 2006.

YARLETT, N. et al. Reduction of nitroimidazole derivatives by hydrogenosomal extracts of *Trichomonas vaginalis*. **Molecular and Biochemical Parasitology**, Amsterdã, v. 14, n. 1, p. 29-40, 1985.

### 5.3 Artigo VII: **Desenvolvimento e Validação do Método Analítico aplicado ao Teste de Dissolução do Ornidazol Comprimido**

Monica Felts de La Roca, José Lamartine Soares Sobrinho, Severino Grangeiro Júnior, Keyla Emanuelle Ramos da Silva, Pedro José Rolim Neto\*.

Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM, UFPE

#### **Resumo**

O presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento e validação do teste de dissolução para comprimido revestido a base de ornidazol 500 mg. No desenvolvimento do método parâmetros como meio de dissolução, aparato e velocidade de rotação foram investigados, além da avaliação da interferência da filtração do meio e da investigação da estabilidade de 24 horas do fármaco dissolvido no meio de dissolução. A validação do método analítico de performance foi assegurada com a realização do parâmetro precisão, por meio da repetitividade. O método pode ser considerado racional e de baixo custo analítico, garantindo por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas de acordo com o órgão regulatório nacional (ANVISA-MS).

#### **Matérias e Métodos**

##### **Matérias-Primas, Vidrarias e Equipamentos**

Utilizaram-se vidrarias volumétricas calibradas com certificado de calibração por lote do fabricante Brand<sup>®</sup>; Equipamento dissolutor da marca Varian, modelo VK-7000, VK-7010 e VK-750D, com coletor automático modelo VK-8000; Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência da marca Shimadzu<sup>®</sup>, com Detector de arranjo de iodo, usando software Class – VP; Ultra sonic Branson<sup>®</sup>, modelo: 2510, como banho de ultrason; Sistema Milli-Q<sup>®</sup> *academic* da Millipore<sup>®</sup>. Comprimidos revestidos de ornidazol 500 mg desenvolvidos no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM) da UFPE. Metanol grau UV-HPLC, da

---

\* Endereço para Correspondência: Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM. Departamento de Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária, Recife – PE. 50740-521. Tel/Fax (81) 3272-1383. E-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

Marca J.T Baker®; Água Ultra-Pura obtida através de Sistema Milli-Q®; Ácido Fosfórico marca Vetec®; Unidade Filtrante Millex® com porosidade de 0,45 µm; Coluna Cromatográfica Shim-Pack® ODS com empacotamento C<sub>18</sub>, 150 x 4,6 mm, Ø partícula 5 µm.

### **Desenvolvimento e Validação do Método Analítico**

O método de dissolução foi desenvolvido e posteriormente validado atendendo a Resolução RE n° 899, de 29 de maio de 2003, este método é classificado segundo a sua finalidade como teste de performance, pertencendo a categoria 3, apresentando como exigência o ensaio de Precisão/Repetitividade para a validação do método, os outros ensaios podem ser necessários dependendo da natureza do teste específico.

Elaborou-se um protocolo de desenvolvimento e validação do método analítico. No estudo variou-se os parâmetros: meio de dissolução (água destilada, ácido clorídrico 0,1 M, tampão fosfato de potássio pH 7,3 e tampão acetato de sódio pH 4,3), aparato 1 (Cesta) nas velocidades de rotação de 50 e 100 rpm e aparato 2 (Pá) nas velocidade de rotação de 50, 75 e 100 rpm, sendo estas velocidades de rotações pré-estabelecidas para cada aparato segundo a Farmacopéia Brasileira (1988) e a USP (2006), além de se ter analisado a estabilidade do fármaco no meio de dissolução pelo período de 24 horas e a influência da filtração da amostra. Na validação do método analisou-se a precisão do método, por meio da repetitividade.

O preparo do teste de dissolução e a técnica de preparo das amostras consiste no preparo do meio de dissolução; aquecimento do meio de dissolução a 40°C; sonicação da solução aquecida; adição de exatamente 900 mL de meio em cada cuba de dissolução; estabilização da temperatura da solução em  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$  e início do teste de dissolução; após a coleta das amostras no(s) tempo(s) programado(s), pipetar 1 mL utilizando pipeta volumétrica e transferir para um balão volumétrico de 25 mL; Completar o volume do balão volumétrico com uma solução metanol:água ultra-pura (45:55) a fim de se obter uma concentração final de 22,2 µg/mL de ornidazol; Filtrar a solução em membrana com porosidade 0,45 µm e transferir a amostra para o frasco.

A quantificação do teor dissolvido foi procedida por meio de um método analítico previamente desenvolvido e validado. O método analítico de quantificação atendeu aos requisitos de Boas Práticas de Laboratório (BPL), pois apresentou sensibilidade, reprodutibilidade, precisão, robustez, linearidade e confiabilidade requerida para um método analítico (BRASIL, 2003).

As condições cromatográficas do método foram: Coluna Cromatográfica Shim-Pack<sup>®</sup> ODS com empacotamento C<sub>18</sub>, 150 x 4,6 mm, Ø partícula 5 µm; Temperatura do Forno: 30°C; Fluxo da Fase Móvel: 1,0 mL/min; Comprimento de onda: 318 nm; Fase móvel: metanol:água ultra-pura acidificada a 0,05% de ácido fosfórico (45:55); Diluição das Amostras: metanol:água milli-Q<sup>®</sup> (45:55); Concentração de leitura das amostras de ornidazol: 22,2 µg/mL; Volume de injeção: 20 µL; Tempo de corrida: 6 minutos; Tempo de retenção do ornidazol: aproximadamente 3,33 minutos.

## Resultados e Discussão

### Meio de Dissolução

No desenvolvimento do método analítico primeiramente analisou-se a influência do meio de dissolução no perfil de liberação do fármaco. Optou-se por se trabalhar com perfil de dissolução de 5 pontos de coleta, pois possibilita a melhor visualização da influência do meio de dissolução. Para a análise da influência deste parâmetro, padronizou-se o uso do aparato 2 (Pá) com velocidade de rotação de 100 rpm, por ser o aparato e a velocidade de rotação mais utilizados para a forma farmacêutica comprimido segundo a Farmacopéia Brasileira (1988).

Tabela 1. Porcentagem Dissolvida do Ornidazol em Diferentes Meios de Dissolução

Tempo (min)	H <sub>2</sub> O	HCl	Acetato de Sódio	Fosfato de Potássio
	pH 5,52 (%)	pH 1,18 (%)	pH 4,3 (%)	pH 7,3 (%)
5	71,77	92,80	70,68	82,28
10	94,48	97,84	95,05	95,57
15	95,21	96,66	96,82	95,26
20	95,20	95,84	96,24	96,38
30	96,40	96,84	97,18	96,52

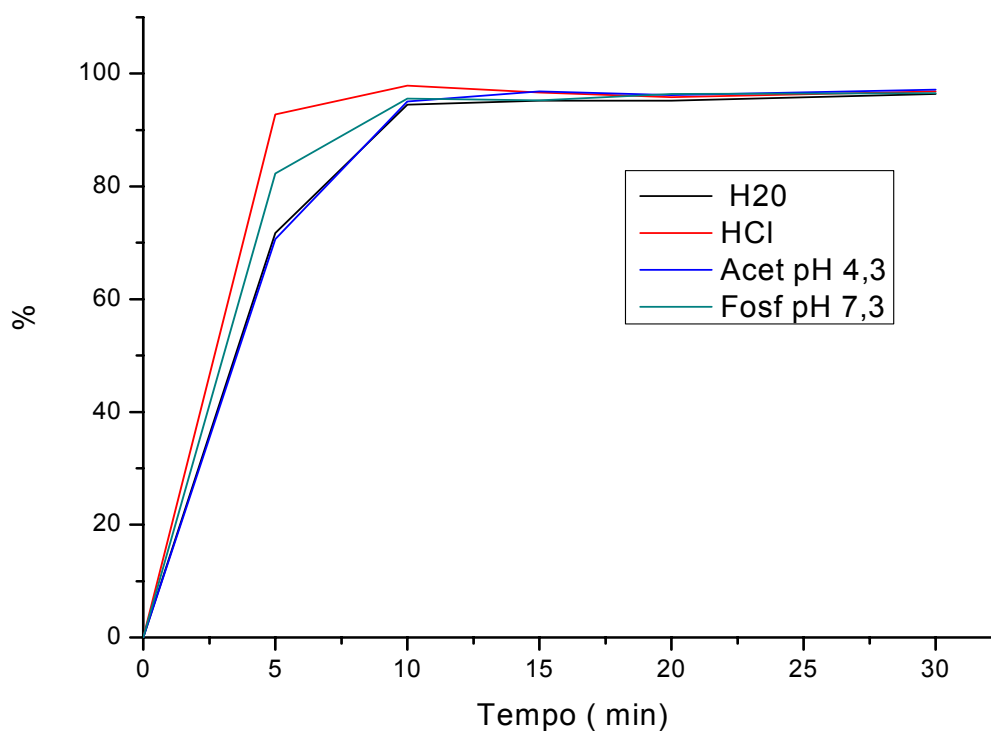


Figura 1. Perfil de Dissolução do Ornidazol em Diferentes Meios de Dissolução

Pode-se observar que não houve uma grande variação entre os meios analisados, o que prova que o pH do meio não influencia a dissolução do fármaco no meio, entre tanto se optou por se trabalhar com o ácido clorídrico a 0,1 M (HCl 0,1 M) por ser mais próximo das condições do trato gástrico (Tabela 1 e Figura 1).

#### **Aparato e Velocidade de Rotação**

A influência do aparato e velocidade de rotação foi estudada por meio de perfil de dissolução de três pontos, pois se observou que o ornidazol apresenta uma dissolução rápida e este número de pontos de coleta já seria representativo. Os tempos de coleta foram fixados em 5, 10 e 30 minutos.

Tabela 2. Porcentagem Dissolvida do Ornidazol em Diferentes Aparatos e Rotações

Tempo (min)	50 rpm	75 rpm	100 rpm	50 rpm	100 rpm
	Pá	Pá	Pá	Cesta	Cesta
5	54,64	80,87	74,93	33,24	75,60
10	74,92	94,37	89,25	63,53	93,24
30	89,67	97,33	93,78	85,71	97,54

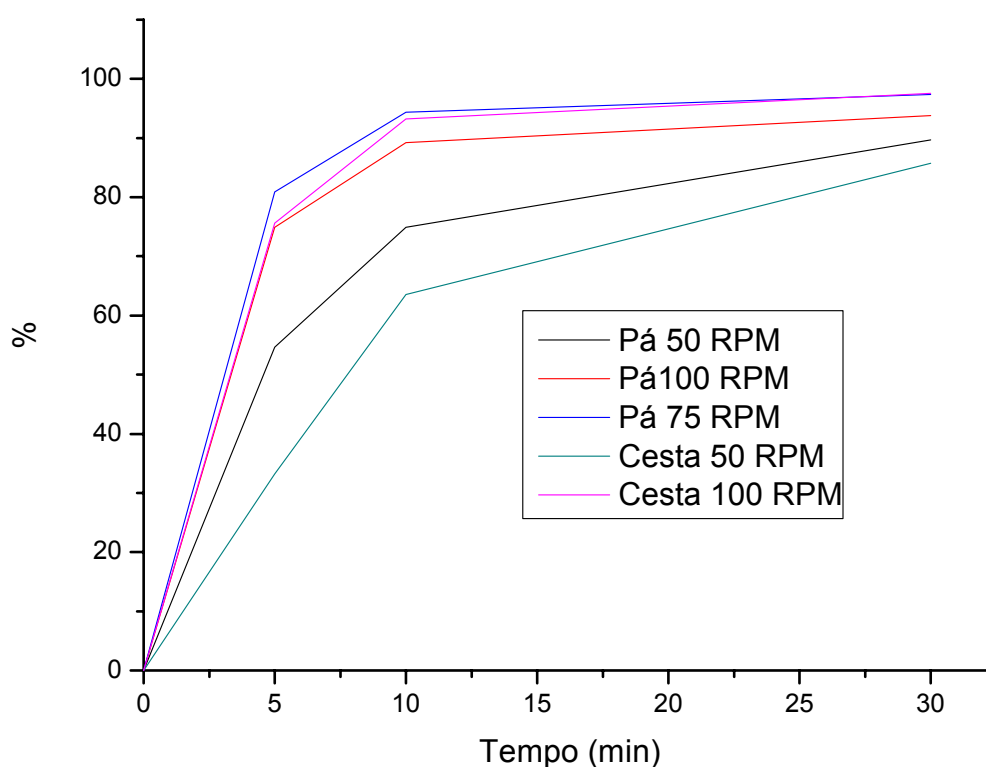


Figura 2. Perfil de Dissolução do Ornidazol em Diferentes Aparatos e Rotações

Após a análise dos resultados obtidos pode-se comprovar que os dois aparatos na velocidade de rotação de 50 rpm apresentaram perfis de dissolução com menor percentual de fármaco dissolvido. Pouca diferença foi observada entre o aparato 1 e 2 na velocidade de rotação de 100 rpm, no entanto optou-se por se trabalhar com o aparato 2 (Pá), por este ser mais empregado na análise da forma farmacêutica comprimido segundo os compêndios oficiais. A diferença entre os resultados apresentados pelo aparato 2 nas velocidades de rotação de 75 e 100 rpm é atribuída a pequenas e deliberadas variações do produto teste, sendo definido para este método a velocidade de rotação de 100 rpm (Tabela 2 e Figura 2).



### Filtração da Amostra

Com o meio de dissolução, aparato e velocidade de rotação definidos, analisou-se a influência da filtração do meio na amostragem, esta análise foi realizada apenas para o tempo de 30 minutos.

Tabela 3. Perfil de Dissolução do Ornidazol Com e Sem Filtração

	Filtrado	Não Filtrado
<b>MEDIA</b>	95,02	94,68
<b>DESVPAD</b>	1,894594	1,793259
<b>CV (%)</b>	1,99371	1,893945

Os resultados estão ilustrados na Tabela 3. Aplicou-se também o estudo estatístico Teste *t*-Student, o qual demonstrou que o *t* calculado 0,373861 foi menor que o *t* tabelado 2,144789 com nível de significância de 5%, comprovando que não houve diferença significativa entre as médias analisadas para as amostra filtradas e não filtradas (Tabela 3).

### Estabilidade da Amostra (24h)

Com o estudo de estabilidade de 24 horas da amostra no meio de dissolução (HCl 0,1M) pode-se demonstrar que a amostra é estável neste meio por um período de 24 horas. O estudo estatístico aplicado foi o Teste *t*-Student o qual demonstrou que o *t* calculado 1,867418 foi menor que o *t* tabelado 2,178812, comprovando que não houve diferença significativa entre as médias analisadas (Tabela 4).

Tabela 4. Estudo de estabilidade do fármaco no meio de dissolução

	Tempo 0 (Conc. %)	Tempo 24 h (Conc. %)
<b>MEDIA</b>	95,91152	94,41838
<b>DESAPD</b>	1,929765	0,866724
<b>CV (%)</b>	2,012026	0,917962

### **Especificação**

Após o desenvolvimento do método analítico realizado por meio de perfil de dissolução, definiu-se como especificação para este método o valor de 85% do fármaco dissolvido em até 30 minutos ( $T \geq 85\%$  em 30 minutos) por ser uma recomendação usual da Farmacopéia Brasileira (1988).

### **Validação do Método Analítico**

#### **Precisão/Repetitividade**

A precisão foi avaliada pela análise da repetitividade, por meio de 8 distintas coletas da amostra no tempo especificado de 30 minutos. O tratamento estatístico dos dados resultou em uma média de 95,90%, desvio padrão de 1,78% e coeficiente de variação de 1,86%. O método pode ser considerado preciso uma vez que o coeficiente de variação (cv) está abaixo do estipulado pela ANVISA, que permite um CV de até 10%.

### **Conclusão**

O método apresentado é considerado como um método de escolha, por não constar descrição em farmacopéias ou formulários oficiais, devidamente reconhecidos pela ANVISA. Foi validado segundo a Resolução RE N° 899 em vigor e os resultados obtidos mostram que o método atende aos requisitos de Boas Práticas de Laboratório (BPL) (BRASIL, 2003).

### **Referências**

BRASIL, Resolução RE n° 899, de 29 de maio de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 jun. 2003.

UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION. Validation of Compendial Methods. In: **US Pharmacopeia**, 29. ed., Rockville, 2006. cap. 1225.

FARMACOPÉIA Brasileira, 4<sup>a</sup> ed., São Paulo: Atheneu. 1988.

# **Conclusões e Perspectivas**

## 6 CONCLUSÕES

As matérias-primas dos três fornecedores analisados apresentaram qualidade satisfatória e foram consideradas adequadas para serem submetidas ao processo produtivo, uma vez que se apresentaram dentro das especificações estabelecidas de controle de qualidade e não apresentam diferenças quantitativas estatisticamente significativas entre si.

Evidenciou-se a compatibilidade físico-química entre os pré-formulados obtidos a base do fármaco ornidazol e dos excipientes utilizados na obtenção da forma farmacêutica comprimido revestido por meio da técnica de análise térmica, além da comprovação da estabilidade térmica da forma farmacêutica após ter sido submetido ao processo produtivo.

Os métodos analíticos quantitativos desenvolvidos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência e Espectroscopia Molecular na Região Ultravioleta e o método analítico de performance desenvolvido para o teste de dissolução da forma farmacêutica final apresentaram resultados satisfatórios para todos os quesitos avaliados por meio do processo da validação.

Diante dos resultados alcançados, pode-se garantir a obtenção da forma farmacêutica comprimido revestido à base do ornidazol 500 mg com compatibilidade físico-química e qualidade comprovada, requisitos fundamentais no desenvolvimento de um medicamento segundo as Boas Práticas de Fabricação e Controle (BPFC), preconizadas pelo órgão regulatório (ANVISA-MS).

## 7 PERSPECTIVAS

- Produzir três lotes pilotos do medicamento desenvolvido de acordo com a Resolução RDC nº 210, de 04 de agosto de 2003 (BRASIL, 2003);
- Realizar o estudo de estabilidade dos comprimidos desenvolvido de acordo com a Resolução RE nº 01, de 29 de julho de 2005 (BRASIL, 2005);
- Realizar a equivalência farmacêutica entre o medicamento teste e o referência de acordo com a Resolução RE nº 310, de 01 de Setembro de 2004 (BRASIL, 2004);
- Realizar a bioequivalência entre o produto teste e o de referência.
- Solicitar junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA o registro do produto farmacêutico.

# Referências

## REFERÊNCIAS

a BRASIL, Resolução RE nº 210, de 04 de agosto de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Determina a todos os estabelecimentos fabricantes de medicamentos, o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 14 ago. 2003.

b BRASIL, Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 02 jun. 2003.

BRASIL, Resolução nº 310, de 1º de Setembro de 2004. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Determina a publicação do "Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução". **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 03 set. 2004.

BRASIL, Resolução RE nº 01, de 29 de julho de 2005. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Autoriza ad referendum, a publicação do Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade. **Diário Oficial [da] União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 01 ago. 2005.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios Físicos-Químicos em Farmácia**. 3. ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2003. 732 p.

INCENBOZ, T.; INCENBOZ, U.; OZTURK, S. Comparative in vitro cytotoxic effects of ornidazole, and ciprofloxacin against *Trichomonas vaginalis* trophozoites. **Journal of Chemotherapy**, Firenze, v. 16, n. 5, p. 458-462. 2004.

ÖZKAN, A. S.; SENTURK, Z.; BIRYOL, I. Determination of ornidazole in pharmaceutical dosage base don reduction at an activated carbon electrode. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdã, v. 157, n. 2, p. 137-144, nov. 1997.

SINGH, P. et al. Ornidazole: Comprehensive Profile. **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**, Boston, n. 30, p. 123-184, 2003.

SOARES SOBRINHO, J. L. et al. Validação de Metodologias Analíticas no Mercado Farmacêutico: Caso Paracetamol. **Controle de Contaminação**, São Paulo, n. 73, p. 35-41, maio. 2005.

WANG, M. et al. Heat capacity and thermodynamic properties of crystalline ornidazole ( $C_7H_{10}ClN_3O_3$ ). **Thermochemica Acta**, Amsterdã, v. 414, p. 25-30, 2004.

WELLS J. Pré-formulação farmacêutica. In: AULTON M. E. (Ed.). **Delineamento de Formas** Farmacêuticas. 2. ed. Poto Alegre: Artmed, 2005. p. 124-48.



# 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](#)