

UFRGS – UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
DISCIPLINA DE ESTÁGIO CURRICULAR EM FARMÁCIA

**VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRIA NO
ULTRAVIOLETA PARA DOSEAMENTO DE TENOXICAM NAS FORMAS
FARMACÊUTICAS COMPRIMIDO E CÁPSULA**

Apresentado por Leandro Reus Rodrigues Perez
Matrícula: 1724/98-7

Trabalho de Conclusão da Disciplina de Estágio Curricular em Farmácia

Porto Alegre, Setembro de 2002.

UFRGS – UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
DISCIPLINA DE ESTÁGIO CURRICULAR EM FARMÁCIA

**VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR ESPECTROFOTOMETRIA NO
ULTRAVIOLETA PARA DOSEAMENTO DE TENOXICAM NAS FORMAS
FARMACÊUTICAS COMPRIMIDO E CÁPSULA**

Apresentado por Leandro Reus Rodrigues Perez
Matrícula: 1724/98-7

Trabalho de Conclusão da Disciplina de Estágio Curricular em Farmácia

Professora Orientadora: Dr^a Elfrides E. S. Schapoval
Professor Co-orientador: Tércio Paschke Oppe

Porto Alegre, Setembro de 2002.

AGRADECIMENTOS

À professora Elfrides Schapoval pelo carinho com que me recebeu e pela orientação deste trabalho.

Ao professor Tércio Paschke Oppe pela atenção e companheirismo durante toda a execução desta pesquisa.

Ao Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Farmácia e toda a sua equipe que ofereceram todas as condições para a realização deste trabalho.

À farmacêutica Eleonora Ingletto Victoreti pelo apoio e fornecimento de material.

À Aline Reolon pelo carinho, atenção e companheirismo a mim dedicados durante a realização do trabalho.

À minha família, a qual sempre está ao meu lado.

E principalmente à Deus, pela sua constante presença em minha vida.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	ii
SUMÁRIO.....	iii
RESUMO	vii

INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Resposta Inflamatória.....	3
2.2. Antiinflamatórios Não-Esteróides (AINEs)	4
2.2.1. Seleção.....	5
2.2.2. Mecanismo de Ação	6
2.2.3. Efeito Antipirético.....	7
2.2.4. Efeito Analgésico	8
2.2.5. Efeitos Indesejados Comuns dos AINEs	9
2.3. Tenoxicam	9
2.3.1. Descrição	10
2.3.2. Estrutura.....	11
2.3.3. Síntese.....	12
2.3.4. Mecanismo de Ação	12
2.3.5. Farmacocinética	13
2.3.6. Indicações	14
2.3.7. Posologia.....	14
2.3.8. Contra-Indicações.....	15
2.3.9. Precauções	15
2.3.10. Efeitos Adversos	16
2.3.11. Interações Medicamentosas	16
2.3.12. Conduta na Superdosagem.....	17
2.4. Espectrofotometria	18
2.4.1. Vantagens e Desvantagens em Espectrofotometria na Região do UV.....	18
2.5. Validação dos Métodos Analíticos	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
3.1. Materiais	21
3.1.1. Substância e Referência.....	21
3.1.2. Produto Farmacêutico.....	21
3.1.3. Reagentes.....	21
3.1.4 Equipamentos.....	22
3.2. Métodos	22
3.2.1. Identificação.....	22
3.2.1.1. Espectrofotometria de Absorção no Infravermelho	22
3.2.1.2. Ponto de Fusão	23
3.2.1.3. Espectrofotometria de Absorção no Ultravioleta.....	23
3.2.2. Doseamento Espectrofotométrico na Região do Ultravioleta.....	24

3.2.2.1. Obtenção da Curva de Ringbom	24
3.2.2.2. Obtenção da Curva Padrão	24
3.2.2.3 Análise Estatística	25
3.2.3. Determinação da Medida e Tempo de Desintegração de Comprimidos e Cápsulas de Tenoxicam	25
3.2.3.1. Determinação da Medida de Comprimidos e Cápsulas de Tenoxicam	25
3.2.3.2. Determinação do Tempo de Desintegração de Comprimidos e Cápsulas	26
3.2.4. Determinação de Tenoxicam em Comprimidos	26
3.2.4.1. Determinação do Peso Médio	26
3.2.4.1.1. Teste de Dureza	27
3.2.4.2. Preparo da Solução de Tenoxicam Substância de Referência	27
3.2.4.3. Preparo da Amostra de Comprimidos	27
3.2.4.4. Cálculos	28
3.2.5. Determinação de Tenoxicam em Cápsulas	29
3.2.5.1. Determinação do Peso Médio	29
3.2.5.2. Preparo da Solução de Tenoxicam Substância de Referência	29
3.2.5.3. Preparo da Amostra de Cápsulas	29
3.2.6. Teste de Recuperação	29
3.2.6.1. Preparo das Soluções	30
3.2.6.2. Cálculo do Teste de Recuperação	31
3.2.7. Cálculo dos Limites de Detecção e Quantificação	31
4. RESULTADOS	32
4.1. Identificação	32
4.1.1. Espectrofotometria de Absorção no Infravermelho	32
4.1.2. Ponto de Fusão	33
4.1.3. Espectrofotometria de Absorção no UV	34
4.2. Controle de Qualidade do Produto Acabado	37
4.2.1. Peso Médio de Comprimidos e Cápsulas	37
4.2.2. Medidas de Comprimidos e Cápsulas de Tenoxicam	37
4.2.3. Teste de Desintegração	38
4.2.4. Teste de Dureza para a Forma Farmacêutica Comprimidos	39
4.3. Doseamento Espectrofotométrico de Tenoxicam	40
4.3.1. Obtenção da Curva de Ringbom	40
4.3.2. Obtenção da Curva Padrão	42
4.3.3. Determinação de Tenoxicam em Comprimidos e Cápsulas	44
4.4. Teste de Recuperação	45
4.5. Limites de Detecção e Quantificação	46
5. DISCUSSÃO	47
6. CONCLUSÃO	49
7. REFERÊNCIAS	50

RESUMO

Palavras-chave: tenoxicam, validação de método de análise, espectrofotometria-ultravioleta

O presente trabalho tem por objetivo demonstrar a adequação de um procedimento analítico em relação ao doseamento do antiinflamatório não-esteróide tenoxicam nas formas farmacêuticas comprimido e cápsula. A validação do método, realizada por espectrofotometria na região do ultravioleta, demonstrou linearidade ($r = 0,99995$), precisão (DPR = 0,693 % para comprimidos e 0,722 % para cápsulas) e exatidão com 99,11 % e 99,94 % para comprimidos e cápsulas, respectivamente. Os limites de detecção e quantificação foram 0,12 $\mu\text{g/mL}$ e 0,38 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

INTRODUÇÃO

O tenoxicam é um agente antiinflamatório não-esteróide de estrutura similar ao piroxicam. A administração diária de 20 mg pela via oral é efetiva no tratamento de artrite reumatóide, osteoartrite, espondilite anquilosante, e condições reumáticas não-articulares. A administração retal de 20 mg por dia também se mostrou efetiva (MICROMEDEX, 2002).

Tenoxicam é rapidamente absorvido quando administrado pela via oral, sendo que sua biodisponibilidade é de 100 %. É metabolizado completamente no fígado, com 65 % da dose administrada sendo excretada na urina na forma de metabólitos. O tempo de meia-vida do tenoxicam é de, aproximadamente, 70 horas. Seu mecanismo de ação principal é devido à capacidade de inibir a síntese de prostaglandinas por inibição da enzima ciclooxigenase (GONZALEZ & TODD, 1987; ICHIHARA *et al*, 1985).

Alguns dos métodos descritos na literatura para a determinação do tenoxicam nos fluidos biológicos e em preparações farmacêuticas são a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), espectrofotometria, potenciometria e espectrofluorometria de complexação com alguns íons metálicos (HORRIA, A. MOHAMED *et al*, 2001).

As técnicas preconizadas em códigos oficiais (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1999) direcionam a análise à cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A espectrofotometria de absorção molecular na região do ultravioleta garante uma análise confiável, de fácil aplicação e com elevado grau de sensibilidade, permitindo ser utilizada tanto para análise qualitativa quanto para análise quantitativa de fármacos (FERREIRA, 2000).

Torna-se, portanto, importante a validação desse método para o tenoxicam, a fim de garantir praticidade e custos reduzidos.

O objetivo deste trabalho é desenvolver um método simples, econômico, rápido e sensível, validando a técnica de doseamento do tenoxicam por espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta nas formas farmacêuticas comprimido e cápsula. Para tal, foram avaliados parâmetros como linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Resposta Inflamatória

A inflamação é uma resposta inespecífica do organismo a estímulos etiopatogênicos de natureza diversa. As manifestações clínicas do processo inflamatório são dor, hiperalgesia, eritema e edema. Há a ocorrência de quadros sucessíveis tanto a nível histopatológico quanto a nível molecular, onde ocorre desnaturação protéica a partir de enzimas líticas, sendo o ponto de partida para a ativação de sistemas que sintetizam e liberam substâncias intermediárias de lesão, sendo as prostaglandinas as mais consistentemente envolvidas neste processo (KOROLKOVAS, 2000).

A reação inflamatória está presente em quase todas as lesões produzidas no organismo humano. Os traumas, as infecções, as reações imunitárias a agentes externos e os processos auto-imunes são acompanhados, em maior ou menor grau, de reações inflamatórias. O tratamento é direcionado especificamente à gênese do problema.

Segundo PAYAN e KATZUNG (1998), a resposta inflamatória divide-se em inflamação aguda, resposta imune e inflamação crônica.

A inflamação aguda refere-se à resposta inicial à lesão tecidual e é mediada pela liberação de autacóides. Em seguida, ocorre o desenvolvimento da resposta imune a qual aparece quando as células imunologicamente competentes são ativadas em resposta a organismos estranhos ou substâncias antigênicas liberadas durante a resposta inflamatória aguda ou crônica (PAYAN e KATZUNG, 1998). Neste caso, torna-se necessária a utilização de antiinflamatórios, os quais estão entre os mais largamente utilizados de todos os agentes terapêuticos (RANG *et al*, 2001).

Depois da resposta imune, a inflamação crônica começa caso não haja resolução do processo subjacente, e caracteriza-se pela liberação de diversos mediadores que não são proeminentes na resposta aguda (PAYAN e KATZUNG, 1998).

Os principais eventos existentes no processo inflamatório são alterações no fluxo e no calibre dos vasos sanguíneos, aumento da permeabilidade vascular e exsudação leucocitária (ROBBINS *et al*, 1994).

2.2 Antiinflamatórios Não-Esteróides (AINEs)

Esses fármacos possuem propriedades analgésica, antitérmica, antiinflamatória e antitrombótica. Seu efeito antiinflamatório decorre da inibição de síntese de prostaglandinas, efetuada mediante a inativação da enzima ciclooxigenase (KOROLKOVAS, 2000). O mesmo mecanismo de ação é, ao menos parcialmente, responsável por alguns dos efeitos adversos, como a toxicidade renal e a gastrintestinal.

Seu efeito é sintomático, inespecífico, não interferindo na história natural das doenças inflamatórias. Os AINEs de uso corrente podem ser vistos no Quadro 1.

Quadro 1 – Antiinflamatórios não-esteróides de uso corrente.

SALICILATOS	DERIVADOS DA PIRAZOLONA	DERIVADOS INDÓLICOS	NOVOS AINEs
Aspirina	Fenilbutazona	Indometacina	Naproxeno
	Oxifembutazona		Ibuprofeno
Diflunisal	Bumadizona	Sulindaco	Diclofenaco
	Feprazona		Piroxicam
Salicilatos não-acetilados	Azapropazona	Tolmetina	Tenoxicam
			Meloxicam

2.2.1 Seleção e Estratégias Terapêuticas

Todos os AINEs têm eficácia antiinflamatória similar. Por isso, a escolha deve basear-se em outros critérios: toxicidade relativa, conveniência para o paciente, custo e experiência de emprego. Embora os efeitos adversos sejam qualitativamente iguais, há diferenças quantitativas de intensidade e prevalência. Obviamente, os de menor toxicidade relativa são preferíveis. A maior experiência com um dado agente é fator da escolha, já que efeitos raros, mas graves, podem ser detectados somente após uso extensivo dos fármacos (FUCHS, 1992).

Tem-se investigado, também, a preferência dos pacientes, que parece espelhar o balanço entre o alívio dos sintomas e o desconforto dos efeitos adversos (FUCHS, 1992). A conveniência se refere ao número de administrações diárias, que variam de 1 a 4, dependendo da meia-vida das substâncias, o que influencia a adesão do paciente e o custo total de tratamento. Nesse aspecto, salienta-se os derivados oxicans, como o tenoxicam, administrado a cada 24 horas.

Os principais representantes da classe dos oxicans estão na Figura 1.

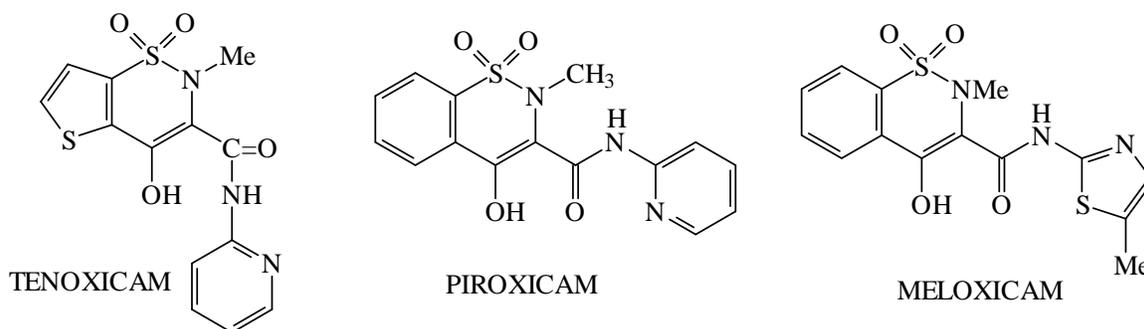


Figura 1 – Estrutura química dos principais oxicans.

Pode-se constatar que a maioria dos antiinflamatórios não-esteróides possui uma função ácida que confere um pKa de 3,0 a 6,0. Por isso, concentram-se seletivamente na mucosa gástrica e nos tecidos onde está desenvolvendo-se um processo inflamatório (MONGE, 1993).

2.2.2 Mecanismo de Ação

Os antiinflamatórios não-esteróides incluem uma grande variedade de agentes diferentes, de várias classes químicas. Muitos desses fármacos têm três tipos de efeitos principais:

- efeitos antiinflamatórios: modificação da reação inflamatória;
- efeito antipirético: redução da elevação da temperatura;
- efeitos analgésicos: redução de certos tipos de dor.

(RANG *et al.*, 2001).

As prostaglandinas formam-se a partir de ácido araquidônico, liberado de fosfolípidos de membrana das células lesadas, por ação catalítica de fosfolipase A₂, fosfolipase C e lipase diglicéridica. As enzimas ciclooxigenase e hidroxiperoxidase catalisam as etapas sequenciais de síntese dos prostanóides - prostaglandinas clássicas e tromboxanos (FUCHS, 1992).

As prostaglandinas e tromboxanos são vasodilatadores, exceto tromboxano A₂. A PGE₂ inibe a ação de linfócitos e outras células que participam das respostas alérgicas ou inflamatórias (FUCHS, 1992).

Em geral, os efeitos principais dos AINEs, que se restringem aos já citados, estão relacionados com a ação primária dos fármacos – inibição da ciclooxigenase araquidônica e, portanto, inibição da produção de prostaglandinas e tromboxanos – embora alguns aspectos individuais possam ocorrer por mecanismos diferentes (RANG *et al.*, 2001).

Existem dois tipos de ciclooxigenases onde atuam a maioria dos antiinflamatórios: a ciclooxigenase-1 (COX-1) e a ciclooxigenase-2 (COX-2), variando apenas o grau de inibição de cada uma delas. A COX-1 é uma enzima constitucional expressa em muitos tecidos, incluindo plaquetas sanguíneas, e está envolvida na sinalização de uma célula para outra e na homeostase tecidual. A COX-2 é induzida em células inflamatórias quando as mesmas são ativadas e é considerada como sendo a enzima que produz os mediadores da inflamação da classe dos prostanóides. Com isso, é provável que os efeitos indesejados dos antiinflamatórios não-esteróides se devam principalmente à inibição da COX-1 (RANG *et al.*, 2001).

2.2.3 Efeito Antipirético

O hipotálamo ou pituitária é responsável pela perda e produção de calor regulando, assim, a temperatura corpórea normal (INSEL, 1996). Quando há um distúrbio nesta regulação, o hipotálamo promove o surgimento da febre. Os AINEs aparentemente reajustam esta elevação anormal de temperatura sem afetar a temperatura normal da pessoa (RANG *et al.*, 2001) e, também, não exercem influência na temperatura corpórea quando ela estiver aumentada por fatores como exercício ou elevação da temperatura ambiente (INSEL, 1996).

O mecanismo de ação antipirética dos AINEs é considerado, pelo menos em parte, como inibição da produção de prostaglandinas no hipotálamo. Durante uma reação inflamatória, as endotoxinas bacterianas fazem com que os macrófagos liberem um pirogênio (IL-1) e há evidências de que IL-1 estimula a produção no hipotálamo das prostaglandinas tipo E e que estas, por sua vez, podem causar a elevação do ponto de ajuste da temperatura (RANG *et al.*, 2001).

Os AINEs não suprimem a febre causada pelas prostaglandinas, quando elas forem administradas diretamente, porém, inibem a febre causada pelos agentes que aumentam a síntese da IL-1 e outras citocinas que, pelo menos em parte, por certo causam febre induzindo a síntese endógena das prostaglandinas (INSEL, 1996).

Acredita-se que as prostaglandinas não são as únicas mediadoras da febre; portanto os AINEs podem ter um outro efeito antipirético por mecanismos diferentes (RANG *et al.*, 2001).

2.2.4 Efeito Analgésico

Em geral, os AINEs são classificados como analgésicos suaves, porém, esta classificação não está totalmente correta. Para avaliar a eficácia de um analgésico, é preciso levar em consideração o tipo e a intensidade da dor (INSEL, 1996).

As prostaglandinas são responsáveis pela sensibilização dos terminais nervosos aferentes a mediadores como a bradicinina. Portanto, os AINEs agem aliviando a dor pela diminuição da produção de prostaglandinas em locais onde há processos inflamatórios ou danos teciduais. Por outro lado, a capacidade que esses fármacos possuem de aliviar cefaléias pode estar relacionada com a anulação do efeito vasodilatador das prostaglandinas sobre a circulação cerebral (RANG *et al.*, 2001).

2.2.5 Efeitos Indesejados Comuns dos AINEs

Os principais efeitos adversos relacionados a esse tipo de medicamento são:

- Distúrbios gastrintestinais

São atribuídas à redução do efeito citoprotetor gástrico das prostaglandinas. As manifestações incluem eritema e erosões gástricas, ulceração gástrica e duodenal, dispepsia, dor epigástrica, náuseas e vômitos, anorexia, flatulência, diarreia e perda de sangue pelo tubo digestivo.

- Problemas renais

Ocorrem em pacientes com disfunção renal preexistente ou comprometimento da perfusão renal. As complicações compreendem insuficiência renal aguda ou crônica, síndrome nefrótica, necrose papilar aguda, necrose tubular aguda e nefrite intersticial aguda.

- Reações hepáticas

Devem-se à hipersensibilidade ou à hepatotoxicidade direta. O tratamento prolongado com AINEs pode causar hepatite crônica.

- Manifestações de hipersensibilidade

São variadas e caracterizam-se por manifestações sistêmicas de ativação dos mastócitos, incluindo dispnéia, hipotensão, dor torácica, taquicardia, prurido, dor abdominal, diarreia, broncorréia e rinorréia (FUCHS, 1992).

2.3 Tenoxicam

O tenoxicam é um agente analgésico e antiinflamatório não-esteróides pertencente à classe dos oxicams, caracterizados pelos grupamentos ácidos enólicos que denotam tais atividades. Trata-se de novo oxicam, desenvolvido com a finalidade de ser mais eficaz e de apresentar menores efeitos colaterais em comparação com os oxicams mais

clássicos como o piroxicam. Possui um longo tempo de meia-vida que favorece a sua administração diária. A biodisponibilidade do tenoxicam é de 100 % após administração oral e de 80 % após administração retal (MICROMEDEX, 2002).

2.3.1 Descrição

O tenoxicam caracteriza-se por se apresentar sob a forma de pó cristalino amarelo, apresentando um leve odor característico. A matéria-prima do tenoxicam deve conter não menos que 99,0 % e não mais que 101,0 % de 4-hidróxi-2-metil-N-2-piridil-2H-tieno [2,3-e]-1,2-tiazina-3-carboxamida-1,1-dióxido, calculada com referência à substância anidra (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1999).

Praticamente insolúvel em água, apresenta maior solubilidade em diclorometano e DMSO e é muito solúvel em etanol. Dissolve-se em soluções ácidas e alcalinas (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1999).

Tenoxicam apresenta a propriedade de polimorfismo e, por isso, apresenta um ponto de fusão situado na faixa de 209 a 213 °C (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1999).

Entre as impurezas de produção possíveis estão descritas as substâncias 2-aminopiridina (A) e 4-metil-2-hidroximetil-2H-tieno-[2,3-e]-1,2-tiazina-3-carboxilato-1,1-dióxido (B), representadas na Figura 2.

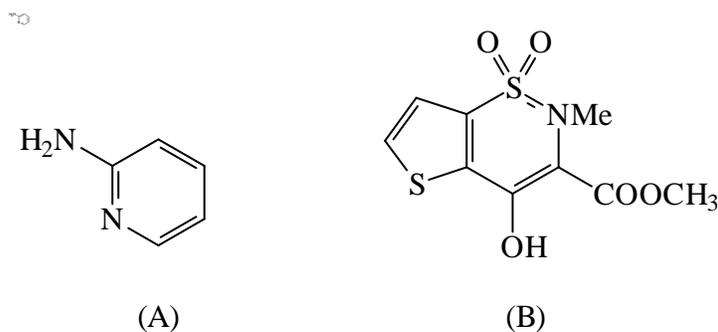


Figura 2 – Principais impurezas de tenoxicam (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1999).

2.3.2 Estrutura

O tenoxicam, 4-hidróxi-2-metil-N-2-piridil-2H-tieno [2,3-e]-1,2-tiazina-3-carboxamida-1,1-dióxido, possui peso molecular de 337,31 e fórmula molecular $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$. Sua fórmula estrutural está representada na Figura 3.

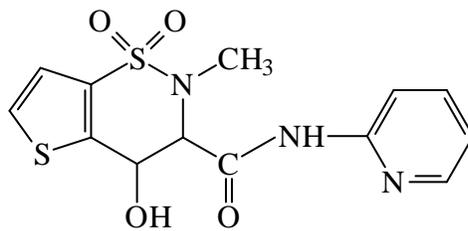


Figura 3 – Fórmula estrutural do tenoxicam (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1999).

2.3.3 Síntese

Segundo BINTER e colaboradores, o tenoxicam pode ser obtido através de um ácido tiofenocarboxílico, após uma série de reações de conversão e ciclização. A síntese do tenoxicam está ilustrada na Figura 4.

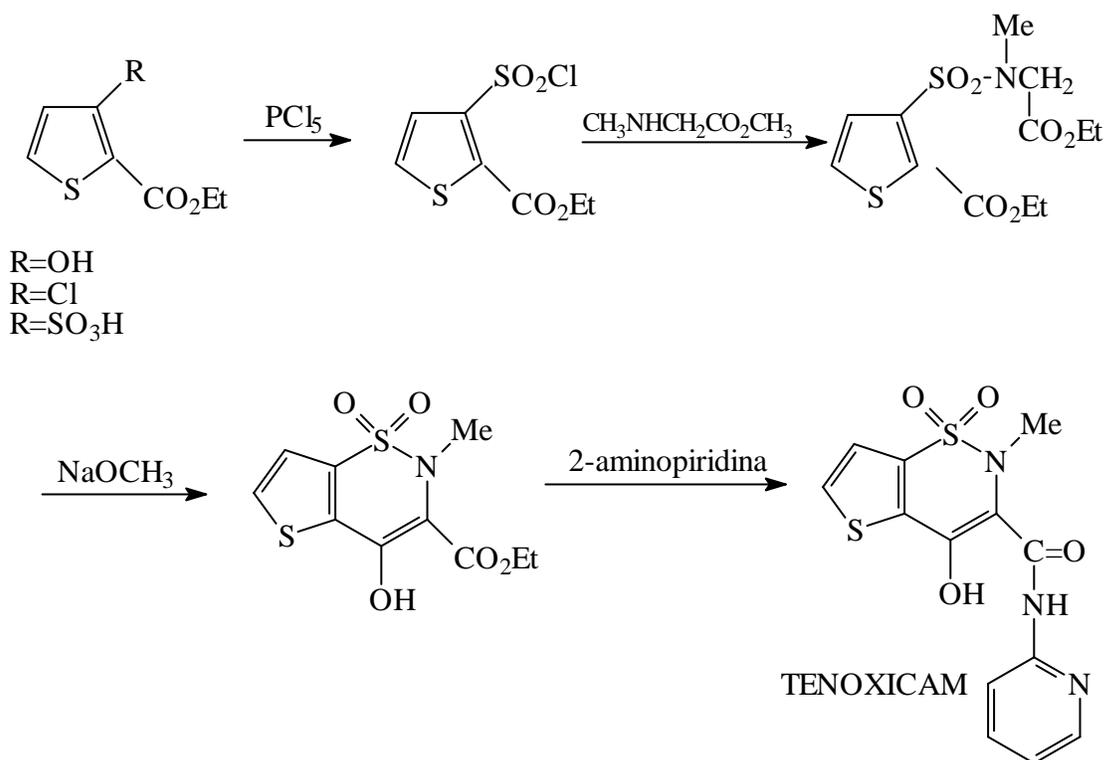


Figura 4 – Síntese de tenoxicam a partir do ácido tiofenocarboxílico.

2.3.4 Mecanismo de Ação

Similar a outros agentes antiinflamatórios não-esteróides, tenoxicam é um inibidor da síntese de prostaglandina via inibição da ciclooxigenase. O fármaco também produz efeitos antiinflamatórios por neutralizar os radicais de oxigênio ativos produzidos no local da inflamação e pela inibição da quimiotaxia leucocitária e fagocitose (GONZALEZ &

TODD, 1987; ICHIHARA *et al*, 1985). Tenoxicam é um potente inibidor *in vitro* das metaloproteinases humanas (estromelisinase e colagenase) que induzem catabolismo da cartilagem. Isto explica, em parte, a eficácia do fármaco no tratamento das doenças inflamatórias e degenerativas dolorosas do sistema musculoesquelético (MICROMEDEX, 2002).

Em modelos animais, tenoxicam apresentou efeitos similares ao do piroxicam com relação às respostas inflamatória e analgésica (GONZALEZ & TODD, 1987). Os efeitos antiinflamatórios são mais potentes que ácido acetilsalicílico, naproxeno e ácido mefenâmico (GONZALEZ & TODD, 1987). Como um agente antipirético, estudos em animais mostraram que o efeito do tenoxicam é equivalente à indometacina, menor que piroxicam, naproxeno, e diclofenaco, e mais potente que ácido acetilsalicílico (GONZALEZ & TODD, 1987).

2.3.5 Farmacocinética

O tenoxicam é completamente absorvido quando administrado por via oral. Possui alta capacidade de ligação às proteínas plasmáticas e um baixo volume de distribuição. Penetra eficientemente no fluido sinovial e seu sistema de depuração (*clearance*) é baixo (MICROMEDEX, 2002).

O tenoxicam possui um elevado tempo de meia-vida de eliminação (60-75 horas) (MICROMEDEX, 2002).

A absorção de tenoxicam é alterada pela presença de alimentos.

Estudos sugerem que sua farmacocinética não é alterada pela idade, sexo, doenças e desordens reumáticas, mas estas confirmações requerem estudos com maiores grupos de pacientes e por um período de tempo maior (MICROMEDEX, 2002)

O metabólito eliminado pela rota de excreção renal é 5-hidroxitenoxicam, que também pode ser excretado pela via biliar na forma de C-6-glucoronídeo de tenoxicam. Somente uma pequena quantidade de tenoxicam é excretada na urina e um terço na forma de metabólitos inativos. O metabólito majoritário é o 5-hidroxitenoxicam em humanos, e um

terço da dose administrada é encontrada na urina na forma deste metabólito. Embora se conheça apenas esse metabólito majoritário, outros metabólitos menores possivelmente existam, sendo que alguns dos quais se formam através da oxidação do anel de tiazina pela leucócito peroxidase (MICROMEDEX, 2002).

2.3.6 Indicações

Tenoxicam é indicado no tratamento de desordens reumáticas crônicas como a artrite reumatóide, osteoartrite e também em vários casos de condições inflamatórias extra-articulares (tendinites, bursitis, periartrites, entre outros). Além destas doenças, o tenoxicam também é utilizado no tratamento da espondilite alquilosante.

Tenoxicam possui propriedades analgésicas e antiinflamatórias, sendo aplicado principalmente em desordens reumáticas nas doses usuais de 10-20 mg diárias por mês (MICROMEDEX, 2002).

2.3.7 Posologia

A dose diária usual deste medicamento é de 20 mg podendo ser administrada em dose única ou em doses múltiplas.

Elevadas doses de tenoxicam, como 40 mg/dia podem vir a ser mais eficazes que doses de 20 mg/dia, de acordo com alguns estudos, principalmente em pacientes com osteoartrite, mas efeitos adversos significantes são mais frequentes (GONZALEZ & TODD, 1987; MICROMEDEX, 2002). Em outros estudos, doses acima de 20 mg/dia não demonstraram grande eficácia (GONZALEZ & TODD, 1987).

2.3.8 Contra-Indicações

O tenoxicam é contra-indicado àquelas pessoas que desenvolveram hipersensibilidade aos oxicams, na gravidez e lactação.

Pacientes que apresentaram pólipos nasais e angioedema ou broncoespasmo induzido por ácido acetilsalicílico ou outros agentes antiinflamatórios não-esteroides não devem utilizar o tenoxicam, bem como aquelas que apresentam úlcera péptica ou hemorragia gastrointestinal intensa (REYNOLDS, 1989; KOROLKOVAS, 2000).

2.3.9 Precauções

Tenoxicam não deve ser utilizado por pacientes com história de ulceração gastrointestinal, hemorragia, ou perfuração e, também, por aqueles com disfunção renal, hipertensão ou agravamento de condições cardíacas por retenção de fluidos e edema (REYNOLDS, 1989).

Deve ser utilizado com cautela em pacientes que apresentam disfunção hepática, pré-existência de infecção, predisposição à retenção de líquido e histórico de distúrbios de coagulação (MICROMEDEX, 2002).

O fármaco inibe a agregação plaquetária e pode ocasionar perturbação na hemostasia (MICROMEDEX, 2002).

2.3.10 Efeitos Adversos

Geralmente, os efeitos adversos oriundos do tenoxicam são similares aos dos outros antiinflamatórios não-esteróides. Os efeitos mais comuns são sintomas gastrintestinais (náusea, dispepsia, indigestão, vômito e desconforto epigástrico), ocorrendo em aproximadamente 7,6 % dos pacientes que ingerem 20 mg/dia (MICROMEDEX, 2002).

Hiperemia cutânea, urticária e edema também foram observados em ocorrências clínicas. Casos de ulceração péptica com tenoxicam resultou na suspensão da terapia por cinco semanas. Entretanto, os pacientes mostraram tolerância ao tenoxicam quando a cimetidina foi administrada concomitantemente (MICROMEDEX, 2002).

2.3.11 Interações Medicamentosas

Como ocorre com outros antiinflamatórios não-esteróides, o salicilato desloca o tenoxicam dos sítios de ligação às proteínas plasmáticas, aumentando, assim, a eliminação e o volume de distribuição do tenoxicam (MICROMEDEX, 2002).

Devido à capacidade do tenoxicam em provocar desconforto e até sangramento gastrintestinal, além de inibir a agregação plaquetária, deve ser considerada a administração concomitante de anticumarínicos, como o femprocumarol, pois estudos relataram que houve aumento significativo da atividade anticoagulante do femprocumarol durante terapia com tenoxicam (GONZALEZ & TODD, 1987).

Estudos clínicos mostraram que alendronato, quando administrado junto com agentes antiinflamatórios não-esteróides estão associados com surgimento de irritação gastrintestinal de menor severidade (MICROMEDEX, 2002).

Antiinflamatórios não-esteróides podem diminuir os efeitos de anti-hipertensivos e natriuréticos de inibidores da enzima conversora de angiotensina, envolvendo um mecanismo de interferência na produção de prostaglandinas e estimulação do agente anti-

hipertensivo, produzindo efeitos como bradicardia associada à hipercalemia (MICROMEDEX, 2002).

Estudos comprovaram a elevação do teor de lítio sérico e sintomas de sua toxicidade (MICROMEDEX, 2002). Assim, acredita-se que haja uma diminuição da eliminação renal de lítio, provocada pela inibição da prostaglandina (INSEL, 1996; REYNOLDS, 1989).

Foi verificado que o uso de AINEs com metotrexato resultou em casos severos de toxicidade, devido ao aumento dos níveis de metotrexato, provocando leucopenia, trombocitopenia, anemia, nefrotoxicidade e ulcerações da mucosa (MICROMEDEX, 2002).

Sabe-se que existe uma interação entre AINEs e diuréticos poupadores de potássio, quando administrados concomitantemente, podendo ocasionar casos de hipercalemia e insuficiência renal (MICROMEDEX, 2002).

2.3.12 Conduta na Superdosagem

Embora não exista experiência de superdosagem aguda com o tenoxicam, pode-se esperar que os sinais de sintomas mencionados no item 2.3.10 ocorram de modo mais pronunciado. Nenhum antídoto específico é conhecido até o momento. A superdosagem deve ser controlada através de medidas que visem reduzir a absorção (como a lavagem gastrintestinal e administração de carvão ativado) e acelerar a eliminação (como, por exemplo, colestiramina) (MICROMEDEX, 2002).

2.4 Espectrofotometria

Espectrofotometria ou espectrometria de absorção molecular é um dos métodos mais utilizados no mundo em laboratórios químicos e clínicos. Em análise farmacêutica é amplamente empregado para identificação (análise qualitativa) e doseamento (análise quantitativa) de fármacos e medicamentos (FERREIRA, 2000).

Todos os métodos espectrofotométricos são baseados na interação de uma substância química com a energia radiante. Os tipos de energia radiante de maior aplicação são: ultravioleta (190-380 nm); visível (380-780 nm) e infravermelho (2500-16000 nm ou 60-4000 1/cm). Na maioria dos casos, o efeito desta interação é a absorção de energia pela substância que está sendo analisada (FERREIRA, 2000).

2.4.1 Vantagens e Desvantagens em Espectrofotometria na Região do Ultravioleta-Visível

Segundo FERREIRA (2000), a principal vantagem da espectrofotometria na análise de fármacos é a sensibilidade.

Outra grande vantagem é a conveniência e uma segurança razoável do método. Se conduzidas de forma correta e cautelosa, as análises são facilmente executadas, rápidas, de baixo custo e seguras, que se tornam ainda mais eficientes quando se utilizam equipamentos automatizados que podem realizar mais de uma análise de uma só vez (FERREIRA, 2000).

Por outro lado, uma das desvantagens é a pouca especificidade. Esta metodologia analítica é baseada na quantidade de energia absorvida por uma substância em um comprimento de onda específico. Assim, torna-se muito difícil em análise com produtos de

degradação ou intermediários sintéticos, que possam estar interagindo com a mesma energia radiante (FERREIRA, 2000).

O uso de substâncias de referência, infelizmente, também se torna um problema devido ao custo e à dificuldade de acesso (FERREIRA, 2000).

2.5 Validação dos Métodos Analíticos

Segundo a USP 25 (2002) e ICH (1996), os parâmetros analíticos que devem ser avaliados são os seguintes:

4 exatidão – A exatidão de um procedimento analítico expressa o grau de correlação entre o valor o qual é aceito como referência com um valor convencional obtido ou com valor de referência aceito e valor obtido. Expressa-se como percentagem de recuperação;

4 precisão – representa o grau de repetibilidade entre o resultado das análises individuais quando o procedimento é aplicado diversas vezes em uma mesma amostra homogênea, em idênticas condições de teste. Expressa-se através do desvio padrão relativo em um número significativo de amostras. A precisão pode ser considerada em três níveis: repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade.

4 especificidade - representa a capacidade de um método de avaliar de forma inequívoca a substância em exame na presença de componentes que poderiam interferir com sua determinação numa mistura complexa.

4 limite de detecção – representa a concentração mais baixa da substância em exame que pode ser detectada na amostra, mas não necessariamente quantificada, sob condições experimentais especificadas;

4 limite de quantificação – representa a concentração mais baixa de uma substância em exame que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis, sob as condições experimentais especificadas;

4 linearidade – a linearidade de um procedimento analítico é a habilidade para obter os resultados do teste diretamente proporcionais à concentração da substância em exame dentro de uma determinada variação. Obtém-se a curva de calibração e determina-se a equação de regressão linear e o coeficiente de correlação. Um mínimo de cinco níveis de concentração devem ser avaliados;

4 robustez – refere-se à capacidade que o método possui de não ser afetado por uma pequena modificação em seus parâmetros.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 Substância de Referência

Tenoxicam – teor declarado de 98,6 %, adquiridos em Farmácia de Manipulação localizada na cidade de Porto Alegre, sendo que o fornecedor da referida farmácia é a distribuidora Pharma Nostra, de São Paulo.

3.1.2 Produto Farmacêutico

Cápsulas de tenoxicam 20 mg, adquiridos em Farmácia de Manipulação localizada em Porto Alegre. Os excipientes utilizados nas cápsulas de tenoxicam foram: estearato de magnésio 0,5%, aerosil® 1%, laurilsulfato de sódio 1% e talco farmacêutico 30%.

Foram, também, utilizados comprimidos de tenoxicam 20 mg produzidos por Ache Laboratórios Farmacêuticos S.A. e adquiridos no comércio.

3.1.3 Reagentes

Hidróxido de sódio 0,1 M (MERCK);
Etanol 95% (NUCLEAR);
Metanol P.A.(NUCLEAR);
Brometo de Potássio Anidro (MERCK);

3.1.4 Equipamentos

IR – Espectrofotômetro de infravermelho - FTIR-8101 (Shimadzu)

UV – Visible Recording Spectrophotometer – 160A (Shimadzu)

Cubetas de quartzo Starna Cells (1 cm)

Balança analítica OHAUS, Analytical *Plus*;

Duromêtro Dr. Schleuniger – Pharmatron, Model 6D Tablet Tester;

Desintegrador 301AC – Ética Equipamentos Científicos;

Paquímetro eletrônico digital Starrett – série 727, 0-150 mm;

Aparelho de Köffler – bloco metálico, Modelo Único;

Estufa De Leo – Modelo Único;

Agitador Mecânico IKA Labortechnik – KS 501 Digital;

3.2 Métodos

3.2.1 Identificação

3.2.1.1 Espectrofotometria de Absorção no Infravermelho

A identificação do tenoxicam foi realizada através da adição de brometo de potássio (KBr) anidro (na proporção de 1,5 mg de amostra para 150 mg de brometo de potássio) à amostra previamente dessecada a 105 °C em estufa e, em seguida, levado ao infravermelho para a obtenção dos espectros (USP 25, 2002).

3.2.1.2 Ponto de Fusão

Temperatura ou ponto de fusão de uma substância é a temperatura corrigida na qual esta se encontra completamente fundida (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

Faixa de fusão de uma substância é aquela compreendida entre a temperatura corrigida na qual a substância começa a fluidificar-se ou a formar gotículas na parede do tubo capilar e a temperatura corrigida na qual está completamente fundida, o que é evidenciado pelo desaparecimento da fase sólida (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

A determinação do ponto de fusão de tenoxicam substância de referência foi realizada adicionando-se uma pequena quantidade de pó seco da amostra sobre a superfície metálica do aparelho, previamente aquecida até a temperatura de 10°C abaixo do ponto de fusão previsto e ajustou-se o aquecimento para incrementos de temperatura da ordem de 1°C por minuto (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

Para a determinação do ponto de fusão com maior precisão, foi realizada três medidas. Primeiramente, eleva-se a temperatura mais rapidamente de forma a permitir uma faixa de fusão.

3.2.1.3 Espectrofotometria de Absorção no Ultravioleta

A identificação do tenoxicam através da espectrofotometria no ultravioleta foi realizada num campo de varredura de 200 a 500 nm, sendo utilizado etanol como solvente. Utilizou-se uma concentração de 3 mg % de uma solução de tenoxicam para a leitura do espectro, em uma cubeta de 1 cm (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

3.2.2 Doseamento Espectrofotométrico na Região do Ultravioleta (UV)

3.2.2.1 Obtenção da Curva de Ringbom

A curva de Ringbom foi realizada com a finalidade de determinar a faixa de concentração na qual o método espectrofotométrico na região do ultravioleta obedece a linearidade.

Sua determinação foi feita pesando-se exatamente 25 mg de tenoxicam substância química de referência, os quais foram transferidos para balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M para a dissolução e, posteriormente, completou-se o volume com o mesmo solvente. Utilizando-se uma microbureta, foram transferidas alíquotas de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0; 10,0; 11,0; 12,0; 13,0; 14,0; 15,0; 16,0; 17,0; 18,0; 19,0 e 20,0 mL para balões volumétricos de 100 mL, completou-se o volume com hidróxido de sódio 0,1 M. Obtiveram-se, então, soluções de concentrações crescentes entre 1 µg/mL e 20 µg/mL.

As leituras de absorvância foram feitas contra um branco de hidróxido de sódio 0,1 M, em cubetas de quartzo de 1 cm de espessura, a 367 nm.

3.2.2.2 Obtenção da Curva Padrão

A fim de avaliar a linearidade do método, obteve-se uma curva de calibração e determinou-se a equação da reta e o coeficiente de correlação.

Para a obtenção da curva de calibração, foram pesados 25 mg de tenoxicam substância de referência e transferidos para um balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M para a dissolução e, posteriormente, completou-se o volume com o mesmo solvente, agitando até completa solubilização.

Com o auxílio de uma bureta de 25 mL foram transferidas alíquotas para a obtenção de soluções com concentrações de 4,0 a 18,0 µg/mL de tenoxicam e levados ao espectrofotômetro ($\lambda = 367 \text{ nm}$) para leitura das respectivas absorvâncias.

3.2.2.3 Análise Estatística

A representação gráfica da equação da reta foi determinada pela análise de regressão linear através do método dos mínimos quadrados. As absorvâncias e concentrações utilizadas na determinação da curva padrão foram estatisticamente avaliadas pela análise de variância (ANOVA).

3.2.3 Determinação de Medida e Tempo de Desintegração de Comprimidos e Cápsulas de Tenoxicam

3.2.3.1 Determinação da Medida de Comprimidos e Cápsulas

As medidas dimensionais de comprimidos e cápsulas de tenoxicam foram realizadas utilizando-se um paquímetro. Foram analisadas, para a determinação das medidas, dez e cinco unidades de comprimidos e cápsulas, respectivamente (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

3.2.3.2 Determinação do Tempo de Desintegração de Comprimidos e Cápsulas de Tenoxicam

O teste de desintegração determina se um comprimido ou cápsula se desintegra dentro do limite de tempo especificado na monografia de cada forma medicamentosa, quando unidades, em número especificado, são submetidas às condições experimentais subseqüentemente descritas (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

A desintegração é definida como o estado no qual nenhum resíduo da unidade (comprimido ou cápsula), salvo fragmentos de revestimento ou matriz de cápsulas insolúveis, permanece na tela metálica do aparelho de desintegração. Consideram-se também como desintegradas as unidades que durante o teste se transformam em massa pastosa (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

Utilizou-se seis unidades de comprimidos e cápsulas no teste, colocando uma unidade em cada um dos seis tubos da cesta, adicionou-se um disco a cada tubo e acionou-se o aparelho, utilizando água mantida a $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ como líquido de imersão (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

3.2.4 Determinação do Tenoxicam em Comprimidos

3.2.4.1 Determinação do Peso Médio

O peso médio foi determinado pesando-se, individualmente, vinte comprimidos, em balança analítica, e dividindo-se o peso pelo número total de unidades (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

3.2.4.1.1 Teste de Dureza

O teste de dureza foi realizado com uma amostra de 6 comprimidos de tenoxicam em durômetro, segundo normas estabelecidas na Farmacopéia Brasileira IV. Preconiza-se que os resultados sejam dados em Newton (N). O resultado mínimo deve ser de aproximadamente de 30N.

3.2.4.2 Preparo da Solução de tenoxicam Substância de Referência

Pesaram-se exatamente cerca de 25 mg de tenoxicam substância de referência os quais foram transferidos para um balão volumétrico de 250 mL. Adicionou-se uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M para a dissolução e, posteriormente, completou-se o volume com o mesmo solvente. Retirou-se uma alíquota de 20 mL desta solução a qual foi transferida para um balão volumétrico de 100 mL e completado o volume com o mesmo solvente a fim de obter uma solução de concentração 20 µg/mL. Esta solução foi identificada com a letra **P**.

3.2.4.3 Preparo da Amostra de Comprimidos

Foram pesados vinte comprimidos para a determinação do peso médio. Após triturar manualmente em gral até a completa homogeneização do pó, pesaram-se seis vezes exatamente o equivalente a 25 mg de tenoxicam. Cada amostra referente aos 25 mg de tenoxicam foi transferida a balões volumétricos de 250 mL. Adicionou-se uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M para a dissolução e, posteriormente, completou-se o volume com o

mesmo solvente. Destas soluções, retiraram-se alíquotas de 20 mL e transferidas a balões volumétricos de 100 mL os quais foram nomeados **A1, A2, A3, A4, A5 e A6**.

As leituras das soluções foram realizadas em espectrofotômetro a 367 nm, utilizando-se cubetas de quartzo com 1 cm de caminho óptico e solução de hidróxido de sódio 0,1 M como branco.

3.2.4.4 Cálculos

As concentrações das soluções amostra foram obtidas pela equação abaixo:

$$\mathbf{Ca = Aa \cdot Csr / Asr}$$

Onde:

Ca = concentração da amostra

Csr = concentração da substância de referência

Aa = absorvância da amostra

Asr = absorvância da substância de referência

O teor percentual de tenoxicam nas amostras foi calculado pela equação:

$$\mathbf{Ca \% = Ca \cdot 100 / Ct}$$

Onde:

Ca = concentração de tenoxicam encontrada na amostra (μg)

Ct = concentração teórica de tenoxicam na amostra (μg)

3.2.5 Determinação do Tenoxicam em Cápsulas

3.2.5.1 Determinação do Peso Médio

Foram pesados, individualmente, os conteúdos de 20 cápsulas para a determinação do peso médio, seguindo-se o preconizado pela Farmacopéia Brasileira IV.

3.2.5.2 Preparo da Solução de Tenoxicam Substância de Referência

O preparo da solução de tenoxicam substância de referência foi feito exatamente como indicado no item 3.2.4.2.

3.2.5.3 Preparo da Amostra de Cápsulas

Foram pesados, individualmente, os conteúdos de 20 cápsulas de tenoxicam 20 mg com a finalidade de se estabelecer o peso médio. O procedimento e os cálculos realizados foram os mesmos descritos para a determinação de comprimidos (exceção de que o pó foi obtido pela abertura das cápsulas sendo, após, homogeneizado e que a concentração obtida foi de 12 µg/mL) nos itens 3.2.4.3 e 3.2.4.4, respectivamente.

3.2.6 Teste de Recuperação

O teste de recuperação avalia a exatidão do método através do percentual de recuperação de uma quantidade conhecida de substância de referência adicionada à amostra.

3.2.6.1 Preparo das Soluções

A partir de uma solução com concentração de 60 µg/mL, foi preparada uma solução de tenoxicam substância de referência com concentração de 12 µg/mL, utilizando-se a solução de hidróxido de sódio 0,1 M como solvente.

As soluções-mãe foram preparadas com concentração de 60 µg/mL a partir da solução de tenoxicam comprimidos e, outra, a partir da solução de tenoxicam cápsulas.

Para o ensaio de recuperação, foram transferidas alíquotas de 10,0 mL da solução-mãe para balões de 50,0 mL, denominados A, R₁, R₂ e R₃. Foram adicionadas quantidades de 2,5; 5,0 e 10,0 mL da solução de tenoxicam substância de referência em concentração de 12,0 µg/mL, nos balões R₁, R₂ e R₃, respectivamente. Os volumes dos balões foram completados com hidróxido de sódio 0,1 M para que suas concentrações fossem estabelecidas em 12,0; 15,0; 18,0 e 24,0 µg/mL para os balões A, R₁, R₂ e R₃, respectivamente (Tabela 1).

Tabela 1 - Preparação das soluções para o teste de recuperação aplicado à amostra de tenoxicam para o método espectrofotométrico na região de ultravioleta a 367 nm.

	Vol. Sol. da amostra 60,0 µg/ml (ml)	Vol. Sol. tenox. subst. Ref. 12,0 µg/ml (ml)	Conc. Final * (µg/ml)
A	10,0	-	12,0
R ₁	10,0	2,5	15,0
R ₂	10,0	5,0	18,0
R ₃	10,0	10,0	24,0

* cada concentração foi preparada em triplicata

3.2.6.2 Cálculo do Teste de Recuperação

As percentagens de recuperação (R%) foram calculadas de acordo com a expressão:

$$R\% = [(Cf - Ca) / Cp] \cdot 100$$

Onde:

Cf = concentração da substância de referência + amostra

Ca = concentração da amostra

Cp = concentração da substância de referência adicionada

3.2.7 Cálculos dos Limites de Detecção e Quantificação

Os limites de quantificação e detecção foram calculados através das expressões:

$$\text{Limite de Quantificação (LQ)} = (10 \cdot dp) / s$$

$$\text{Limite de Detecção (LD)} = (3,3 \cdot dp) / s$$

Onde:

dp = desvio padrão

s = inclinação da reta

4 RESULTADOS

4.1 Identificação

4.1.1 Espectrofotometria de Absorção no Infravermelho

A Figura 5 apresenta a identificação do tenoxicam substância de referência por espectrofotometria no infravermelho.

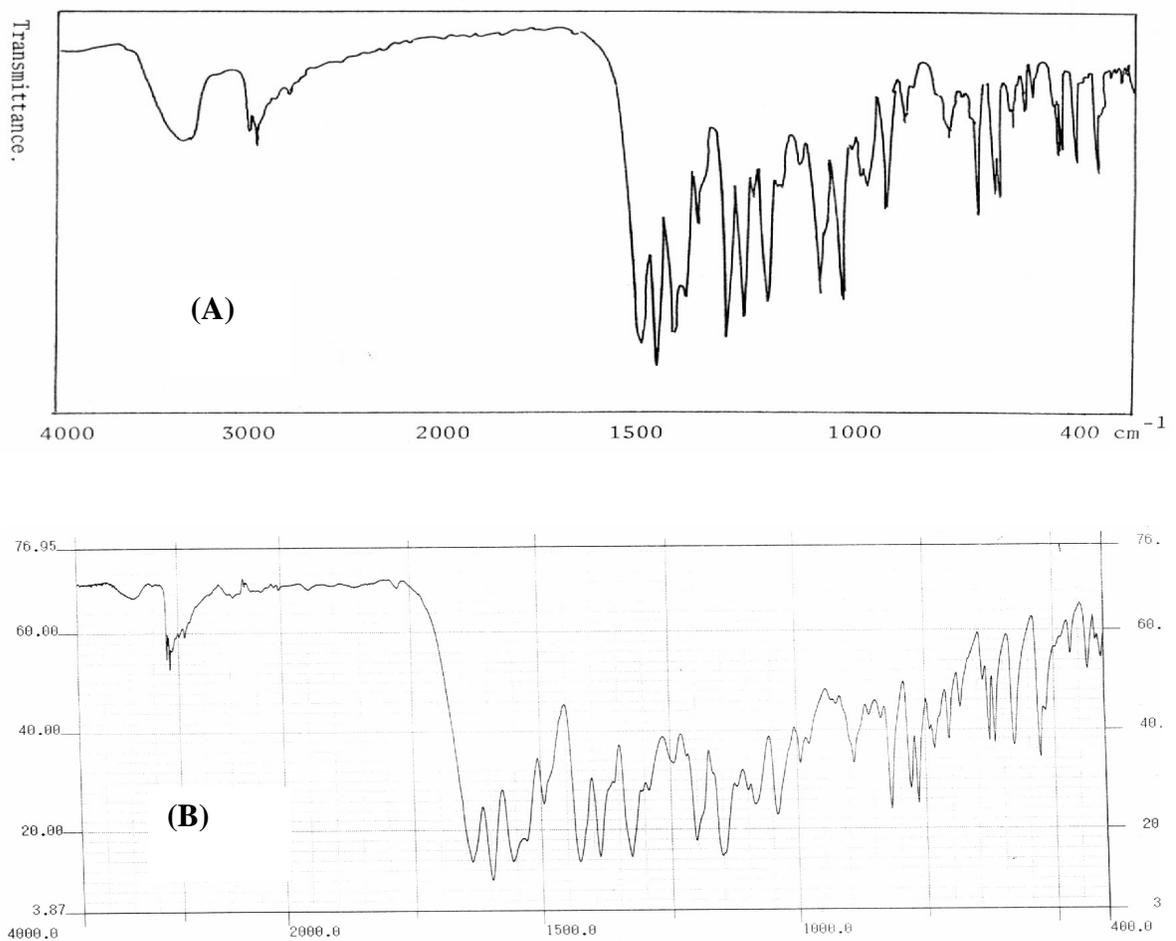


Figura 5 – Identificação do tenoxicam por IV (retirada do livro UV and IR Spectra of Some Important Drugs) (A); em comparação com a identificação do tenoxicam analisado (B).

4.1.2 Ponto de Fusão

A Tabela 2 apresenta a determinação do ponto de fusão que fornece indícios do grau de pureza de tenoxicam substância de referência.

Tabela 2 - Determinação experimental do ponto de fusão para tenoxicam substância e comparação com valores literários (BRITISH PHARMACOPOEIA, 1999).

Faixa de fusão (literatura)	Faixa de fusão (experimental)	Ponto de fusão (experimental)
209 – 213 °C	210 – 220 °C	212 °C

4.1.3 Espectrofotometria de Absorção no Ultravioleta

A Figura 6 apresenta a identificação do tenoxicam substância de referência por espectrofotometria no ultravioleta, em etanol.

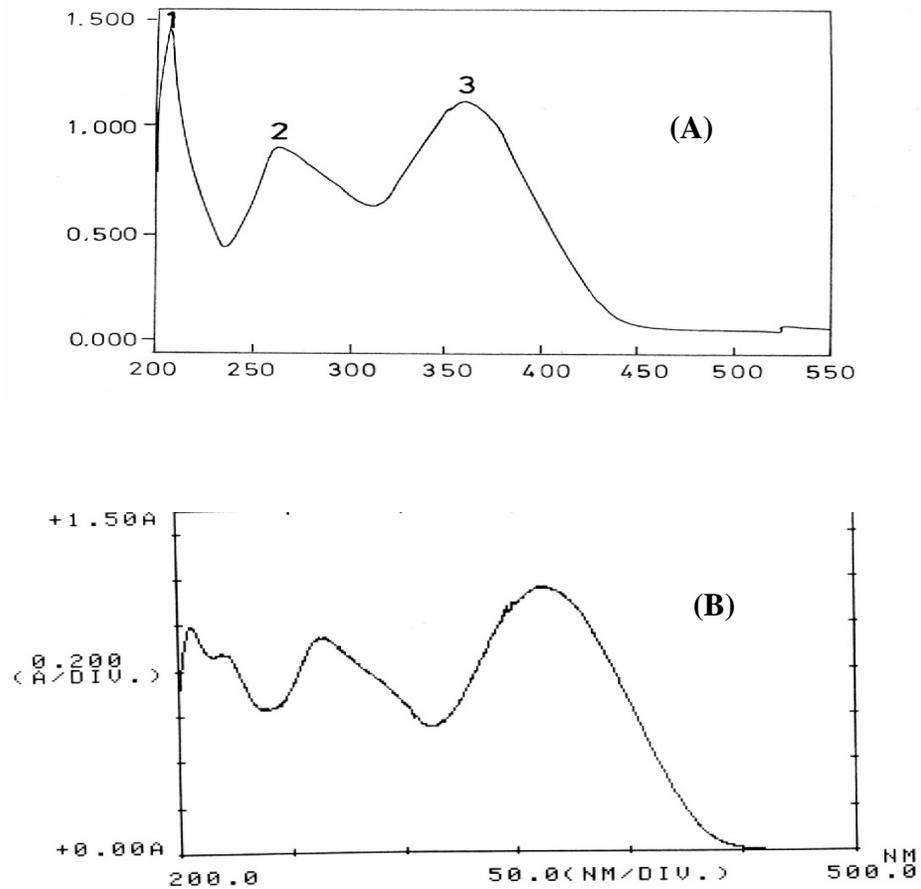


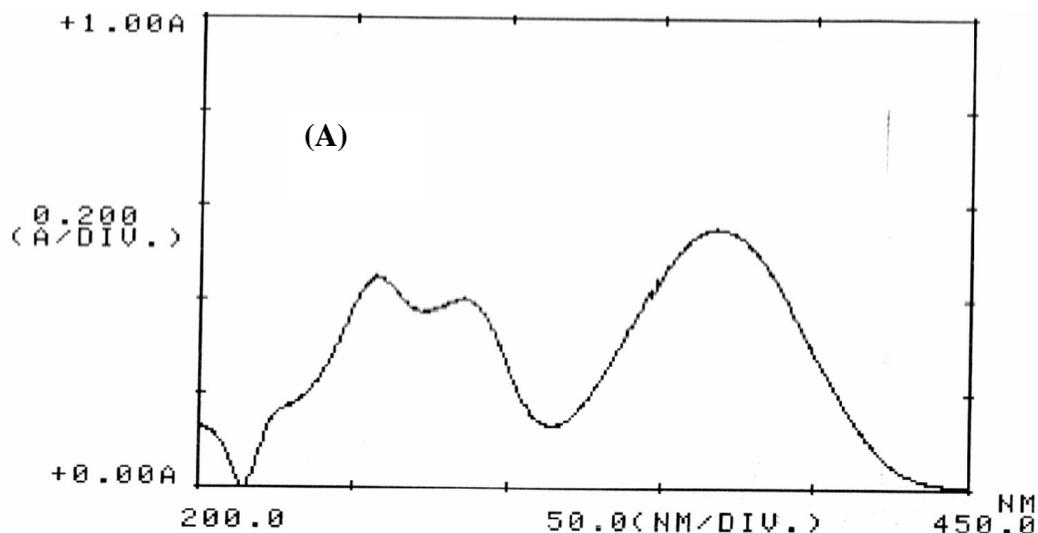
Figura 6 – Identificação do tenoxicam por UV (retirada do livro *UV and IR Spectra of Some Important Drugs*) (A); em comparação com identificação do tenoxicam analisado (B).

Os dados obtidos pela leitura espectrofotométrica na região do ultravioleta de tenoxicam em etanol permitiram a comparação com dados encontrados na literatura científica, como demonstrado na Tabela 3.

Tabela 3 – Comparação entre dados experimentais e científicos do fármaco tenoxicam obtidos pela espectrofotometria na região do UV (em etanol).

Picos de concentração de máxima absorção	
Comprimento de onda (λ) experimental	Comprimento de onda (λ) literário
206,5 nm	205 nm
264,5 nm	265 nm
362,5 nm	360 nm

A Figura 7 apresenta a identificação do tenoxicam nas formas farmacêuticas comprimido e cápsula em comparação com a substância de referência por espectrofotometria no ultravioleta, utilizando-se NaOH 0,1 M como solvente.



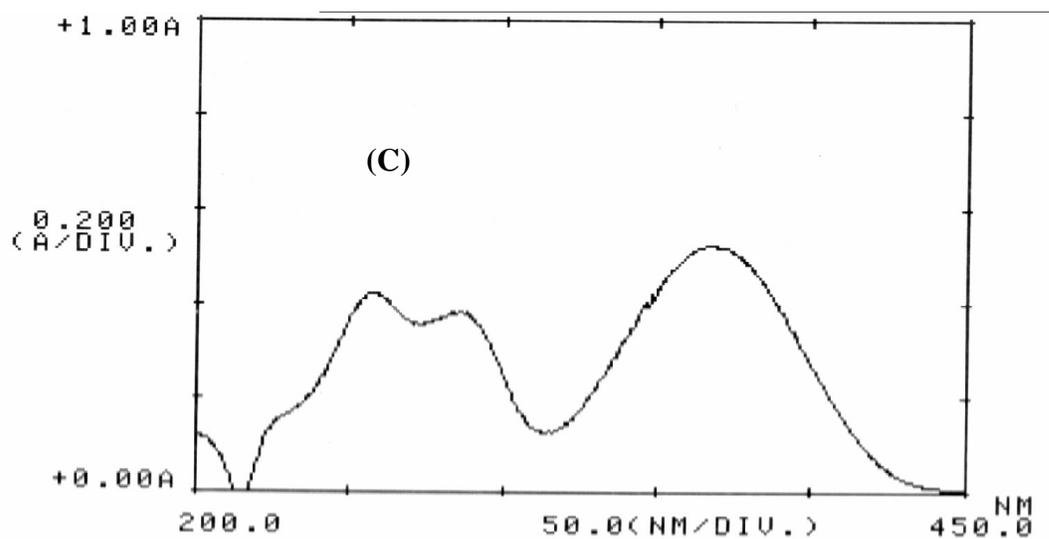
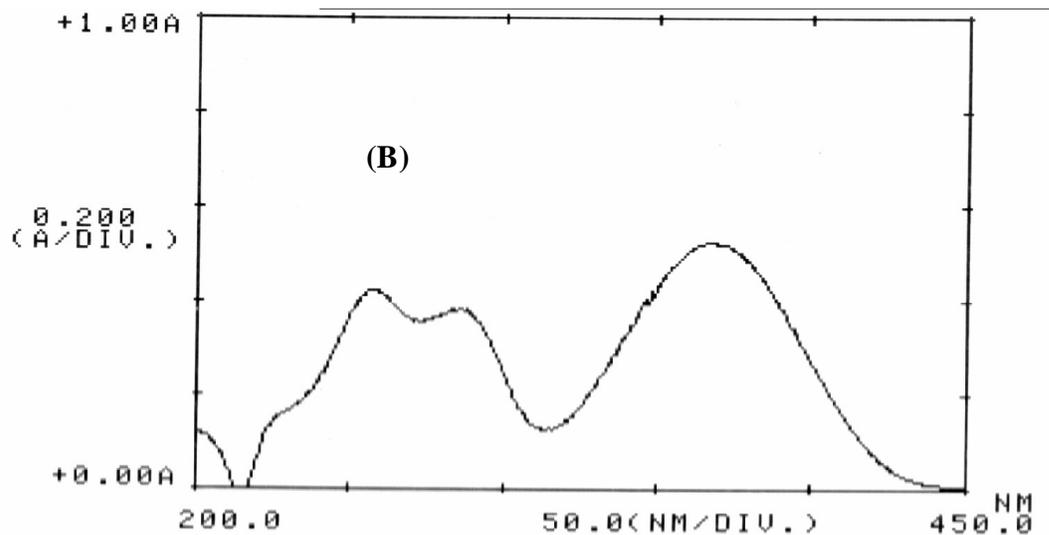


Figura 7 – Identificação do tenoxicam por UV (substância de referência (A), em comprimidos (B) e em cápsulas (C), utilizando NaOH 0,1 M como solvente, em 367 nm).

4.2 Controle de Qualidade do Produto Acabado

4.2.1 Peso Médio de Comprimidos e Cápsulas

O valor encontrado para o peso médio foi de 0,1889 g e de 0,1533 g para comprimidos e cápsulas, respectivamente.

4.2.2 Medida de Comprimidos e Cápsulas de Tenoxicam

Realizou-se a medida dos comprimidos e das cápsulas de tenoxicam obtidos no comércio. As medidas estão demonstradas nas tabelas 4 e 5, respectivamente.

Tabela 4 - Valores obtidos da medida dos comprimidos de tenoxicam.

Comprimido	Altura (mm)	Largura (mm)	Espessura (mm)
1	10,77	5,22	4,13
2	10,66	5,38	4,11
3	10,69	5,30	4,11
4	10,66	5,33	4,10
5	10,70	5,20	4,10
6	10,68	5,42	4,14
7	10,70	5,30	4,18
8	10,65	5,24	4,14
9	10,73	5,22	4,14
10	10,66	5,19	4,13

Tabela 5 - Valores obtidos da medida das cápsulas de tenoxicam.

Cápsula	Diâmetro interno (mm)		Diâmetro externo (mm)		Encaixe (mm)		Comprimento (mm)	
	Tampa	Corpo	Tampa	Corpo	Tampa	Corpo	Tampa	Corpo
1	5,52	5,42	5,66	5,55	5,04	1,65	8,42	13,79
2	5,66	5,41	5,90	5,56	4,81	1,98	8,09	14,01
3	5,62	5,18	5,93	5,61	5,04	2,07	7,97	13,60
4	5,61	5,39	5,81	5,75	5,38	1,53	8,29	13,66
5	5,55	5,13	5,82	5,60	4,40	2,08	8,61	13,90

4.2.3 Teste de Desintegração

A Tabela 6 mostra o tempo de desintegração obtido para as formas farmacêuticas comprimido e cápsula de tenoxicam.

Tabela 6 - Teste de desintegração das formas farmacêuticas comprimido e cápsula de tenoxicam a 37 °C.

Desintegração	Tempo transcorrido (min)	
	Comprimidos	Cápsulas
Inicial	6,0	1,5
Parcial (massa mole)	8,5	3,5
Final	13,0	12

4.2.4 Teste de Dureza para a Forma Farmacêutica Comprimidos

Os valores referentes ao teste de dureza dos comprimidos de 20 mg de tenoxicam estão demonstrados na Tabela 7.

Tabela 7 – Valores obtidos no teste de dureza para comprimidos de 20 mg de tenoxicam.

Comprimido	Dureza (N)	DPR %
1	59,7	
2	53,9	
3	52,9	9,476
4	45,0	
5	57,8	
6	52,9	

4.3 Doseamento Espectrofotométrico do Tenoxicam

4.3.1 Obtenção da Curva de Ringbom

A Tabela 8 apresenta os resultados referentes à obtenção da curva de Ringbom para que seja constatada a faixa de concentração onde o método obedece à linearidade.

Tabela 8 - Obtenção da curva de Ringbom do tenoxicam por espectrofotometria no ultravioleta (UV) a 367 nm.

Amostras	Concentração ($\mu\text{g/ml}$)	Absorvância *	100 – T %
1	1	0,043	9,4
2	2	0,088	18,4
3	3	0,134	26,6
4	4	0,177	33,5
5	5	0,219	39,6
6	6	0,262	45,3
7	7	0,313	51,4
8	8	0,347	55,0
9	9	0,396	59,8
10	10	0,444	64,0
11	11	0,492	67,8
12	12	0,530	70,5
13	13	0,575	73,4
14	14	0,620	76,0
15	15	0,667	78,5
16	16	0,708	80,4
17	17	0,758	82,6
18	18	0,800	84,2
19	19	0,841	85,6
20	20	0,889	87,1

* para cada amostra, as leituras foram feitas em triplicata

Plotou-se a curva de Ringbom utilizando concentração ($\mu\text{g/mL}$) versus absorvância ($100 - T\%$) com a finalidade de determinar a faixa de concentração onde a curva apresenta um erro analítico mínimo para construir a curva padrão (Figura 7).

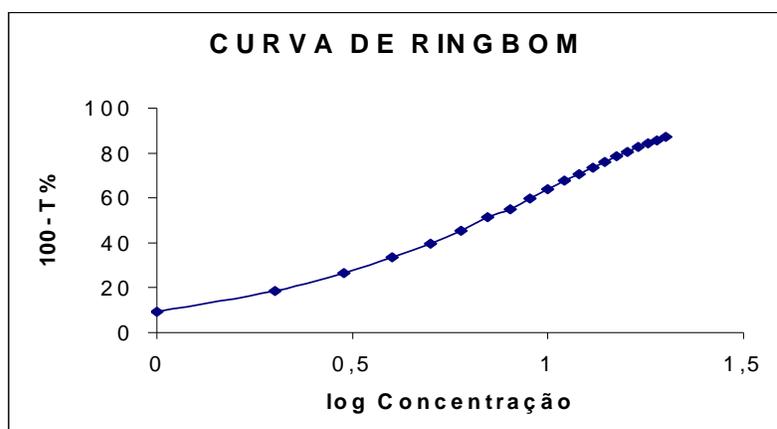


Figura 7 – Curva de Ringbom obtida pelo método espectrofotométrico na região de ultravioleta para o tenoxicam em soluções com concentrações entre 1 a 20 $\mu\text{g/mL}$, utilizando NaOH 0,1 M como solvente.

4.3.2 Obtenção da Curva Padrão

A Tabela 9 apresenta as absorvâncias para a determinação da curva padrão do tenoxicam através do método espectrofotométrico no ultravioleta.

Tabela 9 - Absorvâncias determinadas na obtenção da curva padrão de tenoxicam através do método espectrofotométrico na região do ultravioleta a 367 nm.

Concentração (µg/ml)	Abs	Média	DPR*
4	0,181	0,181	0,391
	0,181		
	0,182		
6	0,271	0,272	0,637
	0,274		
	0,271		
8	0,365	0,362	0,829
	0,362		
	0,359		
10	0,450	0,451	0,271
	0,452		
	0,452		
12	0,543	0,542	0,184
	0,542		
	0,543		
14	0,630	0,632	0,316
	0,632		
	0,634		
16	0,717	0,719	0,368
	0,720		
	0,722		
18	0,805	0,807	0,215
	0,808		
	0,808		

* DPR = desvio padrão relativo

A representação gráfica da curva padrão e o coeficiente de regressão das soluções de tenoxicam em concentrações de 4,0 a 18,0 µg/mL através do método espectrofotométrico na região de ultravioleta a 367 nm estão apresentados na Figura 8.

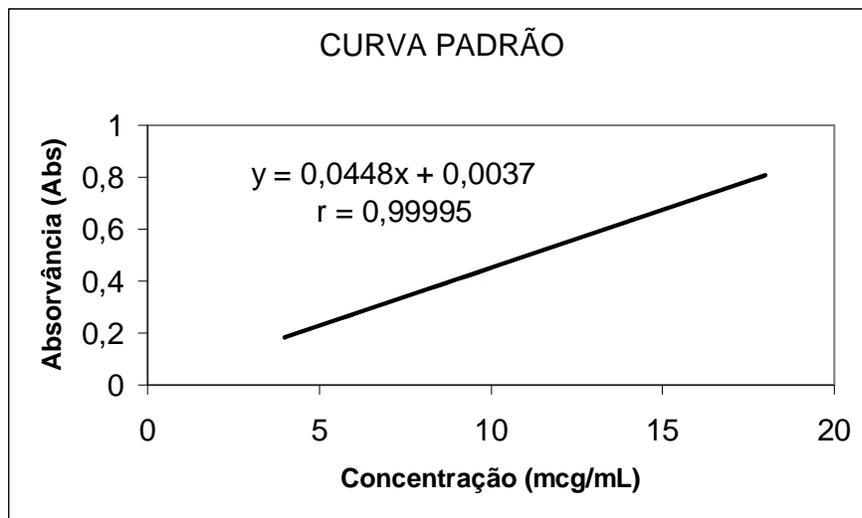


Figura 8 – Representação gráfica da curva padrão da solução de tenoxicam pelo método espectrofotométrico na região de ultravioleta a 367 nm.

Tabela 10 - Análise da variância (ANOVA) das absorvâncias determinadas na obtenção da curva padrão de tenoxicam através do método espectrofotométrico na região de ultravioleta a 367 nm.

Fontes de Variação	GL	Soma dos Quadrados	Variância	F calc.
Entre doses	7	1,0091	0,14415	42190,76
Regressão linear	1	1,0090	1,0090	295323,82*
Desvio de linearidade	6	3,92.10-6	6,5.10-6	1,91
Dentro	16	5,46.10-5	3,4.10-6	
Total	23	-		

* significativo $p < 0,05$

Os parâmetros do tratamento estatístico sobre os valores experimentais obtidos para a curva padrão encontram-se na Tabela 11 .

Tabela 11 - Parâmetros analíticos utilizados na determinação de tenoxicam através do método espectrofotométrico na região de ultravioleta a 367 nm.

PARÂMETROS	RESULTADOS
λ (nm)	367
Faixa de Concentração utilizada ($\mu\text{g/ml}$)	4,0 – 18,0
Equação: $y = ax + b$	
inclinação (a)	0,0039
intercepto (b)	0,0447
r (coeficiente de correlação)	0,99995
n	8

4.3.3 Determinação do Tenoxicam em Comprimidos e Cápsulas

Os valores referentes à determinação do tenoxicam em comprimidos são apresentados na Tabela 12.

Tabela 12 - Valores obtidos no doseamento de comprimidos (20 mg) de tenoxicam pelo método espectrofotométrico na região de ultravioleta a 367 nm.

Amostra	CA* ($\mu\text{g/ml}$)	CA* (%)	Média (%)	DPR**
A1	18,82	94,11		
A2	19,01	95,06		
A3	19,05	95,27	94,64	0,693
A4	18,81	94,04		
A5	19,07	95,35		
A6	18,80	93,98		

* Concentração da amostra

** Desvio padrão relativo

A Tabela 13 ilustra os resultados obtidos da determinação espectrofotométrica no ultravioleta do tenoxicam em cápsulas.

Tabela 13 - Valores obtidos no doseamento de cápsulas (20 mg) de tenoxicam pelo método espectrofotométrico na região de ultravioleta a 367 nm.

Amostra	CA ($\mu\text{g/ml}$)	CA (%)	Média (%)	DPR
A1	11,63	96,92		
A2	11,45	95,42		
A3	11,47	95,58	95,61	0,722
A4	11,43	95,25		
A5	11,56	96,33		
A6	11,30	94,18		

4.4 Teste de Recuperação

As Tabelas 14 e 15 apresentam os valores encontrados no teste de recuperação para comprimidos e cápsulas, respectivamente.

Tabela 14 - Teste de recuperação da solução de tenoxicam substância de referência adicionada à solução de tenoxicam comprimidos através do método espectrofotométrico na região de ultravioleta a 367 nm.

	Concentração Teórica adicionada ($\mu\text{g/ml}$)	Concentração Recuperada ($\mu\text{g/ml}$)	Recuperação (%) *
R1	3,0	3,02	100,66
R2	6,0	5,94	99,0
R3	12,0	11,72	97,66

* cada valor é media de três determinações

Tabela 15 - Teste de recuperação da solução de tenoxicam substância de referência adicionada à solução de tenoxicam cápsulas através do método espectrofotométrico na região de ultravioleta a 367 nm.

	Concentração Teórica adicionada ($\mu\text{g/ml}$)	Concentração Recuperada ($\mu\text{g/ml}$)	Recuperação (%) *
R ₁	3,0	3,02	100,66
R ₂	6,0	6,04	100,66
R ₃	12,0	11,82	98,5

* cada valor é media de três determinações

4.5 Limites de Detecção e Quantificação

Os limites de detecção e de quantificação encontrados foram 0,12 $\mu\text{g/mL}$ e 0,38 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

5. DISCUSSÃO

O monitoramento analítico de um produto farmacêutico ou de um ingrediente específico que o componha faz-se necessário, para que sejam asseguradas a sua segurança e eficácia em todas as fases de seu prazo de validade, incluindo o armazenamento, a distribuição e o uso. Tal monitoramento deverá ser conduzido de acordo com as especificações elaboradas e validadas durante o desenvolvimento do produto. (BRASIL, 1994).

O principal objetivo da validação analítica é assegurar que determinado procedimento analítico selecionado dê resultados reprodutíveis e confiáveis e que sejam adequados aos fins para os quais foram estabelecidos.

Anterior à validação do método, foi realizada a análise qualitativa do tenoxicam substância de referência utilizada. Para tanto, empregou-se a espectrofotometria no infravermelho, que permitiu identificar as bandas características do fármaco, conforme Figura 5.

O ponto de fusão é uma avaliação físico-química que fornece informações do grau de pureza da substância e é utilizada para pesquisar a presença de possíveis contaminantes. Os resultados obtidos na determinação do ponto de fusão do tenoxicam substância de referência foram coerentes com os valores relatados na literatura, conforme Tabela 2.

Foram realizados, também, alguns testes para avaliar as características dos produtos acabados, tais como medidas das formas farmacêuticas (Tabelas 4 e 5) demonstrando-se que há homogeneidade entre as unidades analisadas, desintegração de comprimidos e cápsulas (Tabela 6) comprovando que as mesmas desintegram dentro do tempo preconizado como aceitável, peso médio de 0,1889 g e de 0,1533 g para comprimidos e cápsulas, respectivamente, bem como teste de dureza (Tabela 7) que também apresentou resultados adequados.

O método proposto para o doseamento baseou-se nas características estruturais do tenoxicam o qual, em soluções diluídas de hidróxido de sódio 0,1 M, absorve energia na região do ultravioleta ($\lambda = 367$ nm).

Os resultados obtidos na validação do método demonstraram que a análise do tenoxicam apresentou linearidade, com coeficiente de correlação igual a 0,99995.

A rapidez e a simplicidade do método caracterizou-se pela dissolução do tenoxicam em uma solução de hidróxido de sódio 0,1 M a qual foi filtrada e diluída levando-se, finalmente ao espectrofotômetro.

A precisão do método foi demonstrada pela repetibilidade dos resultados obtidos pela análise de várias alíquotas, nas mesmas condições. O desvio padrão relativo encontrado para os comprimidos foi de 0,693 % e para cápsulas foi de 0,722 %.

Os testes de recuperação aplicados evidenciaram uma boa exatidão do método onde a recuperação média foi de 99,11 % e 99,94 % para comprimidos e cápsulas, respectivamente.

Os limites de detecção e quantificação foram 0,12 $\mu\text{g/mL}$ e 0,38 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, indicando a sensibilidade do método.

Conforme demonstrado nas análises efetuadas, o método mostrou-se adequado e viável para a avaliação do tenoxicam nas formas farmacêuticas comprimido e cápsula.

6. CONCLUSÃO

O método espectrofotométrico de absorção no ultravioleta mostrou-se linear, preciso e exato nas condições estabelecidas, podendo ser utilizado para determinação quantitativa de tenoxicam nas formas farmacêuticas comprimido e cápsula.

Os limites de detecção e quantificação determinados indicam uma boa sensibilidade do método.

7. REFERÊNCIAS

BINDER, D.; HROMATLEA, O.; GEISLER, F. et al. **Journal of Medicinal Chemistry**, 30, 678-682. 1987.

BRASIL. Ministério da Saúde. Brasília, 1994.

BRITISH PHARMACOPOEIA CD-ROM. Vol 1. **Monographs: Medicinal and Pharmaceutical Substances – Tenoxicam**. London, 1999.

DIBBERN, H. W. **UV and IR Spectra of Some Important Drugs**. Editio Cantor Aulendorf, 1978.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4. Ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FERREIRA, A.O. **Guia prático da farmácia magistral**. Juiz de Fora, 2000.

FUCHS, F. D.; WANNMACHER, L. **Farmacologia Clínica: Fundamentos da Terapêutica Racional**. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1992.

HORRIA, A. M.; HANAA, M. A. W.; OTHMAN, A. F. Potentiometric and spectrofluorimetric studies on complexation of tenoxicam with some metal ions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. Assuit, Egypt; Out. 2001. Disponível em: <<http://www.elsevier.com/locate/jpba>>. Acessado em: 21 mai. 2002

ICH – Validation of Analytical Procedures. Methodology. In: **The Third International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use**. Yokohama, 1996.

ICHIARA, S.; TOMISAYA, H.; TATEISHI, M.; JOLY, R. et al. **Drug Metabolism and Disposition**, 17, 463-468. 1988.

INSEL, P.A. Fármacos Antipiréticos e Antiinflamatórios e Medicamentos utilizados no Tratamento da Gota. In HARDMAN, J.; LIMBIRD, L. (Ed). **Goodman & Gilman. As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9. Ed. Santiago: McGraw Hill, 1996. P. 450-479.

GONZALEZ, J. P.; TODD, P. A. **Drugs**, 34, 289-310, 1987.

KOROLKOVAS, A. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. ed. 2000/2001. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J. **Química Farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988.

MONGE, A., Síntesis de sistemas heterocíclicos condensados com benceno. In: AVENDAÑO, M.C., **Química Farmacêutica**. Madrid McGraw-Hill. P.690.

MICROMEDEX: 1974 – 2002. Greenwood Village, Co.: Thomson Micromedex, 2002.1 CD-ROM.

PAYAN, D.G., KATZUNG, B.G., Antiinflamatórios Não-Esteróides; Analgésicos Não-Opióides; Fármacos Utilizados na Gota. In: KATZUNG, B.G., **Farmacologia: Básica e Clínica**. 6. ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1998.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M. **Farmacologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

REYNOLDS, J.E.F. (Ed.) **Martindale: The Extra Pharmacopoeia**. 31. ed. London: Pharmaceutical Press, 1989.

ROBBINS, S.L.; COTRAN, R.S.; KUMAR, V. **Robbins: Patologia estrutural e funcional**. 5 ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 1994. P.45-72.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. 25. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2002.