

## **Desenvolvimento e validação e aplicação de uma metodologia analítica para determinação do meloxicam em formas farmacêuticas sólidas.**

### **Development and validation and application of an analytical method for the determination of meloxicam in solid pharmaceutical forms.**

**RESUMO** O meloxicam, possui atividade anti-inflamatória e analgésica, possui alta atividade inibitória e seletiva sobre a ciclooxigenase (COX-2), sendo encontrado nas concentrações de 7,5 a 15mg em capsulas e comprimidos são produzidos a nível industrial e magistral. O principal propósito deste trabalho foi desenvolver e validar uma metodologia analítica por espectrofotometria para doseamento de meloxicam em capsulas magistrais. Para tanto, o método foi aplicado, as amostras foram diluídas em MTBE (éter metil terc-butílico), assim com as soluções do padrão no intervalo de concentrações de 5 a 30µg/mL. O comprimento de onda para leitura foi de 342nm. O método analítico apresentou linearidade ( $R^2 = 0,9999$ ) a equação  $y = 0,0585x - 0,1052$ , precisão 2,18 ( $CV\% \leq 5\%$ ), exatidão 1,65 e robustez (comprimento de onda diferentes 342 e 344nm, diferentes marcas de solventes) e seletivo. Portanto, método desenvolvido e validado apresenta as características fundamentadas a partir dos resultados encontrados e de acordo com os objetivos deste trabalho.

**Palavras-chave:** método; doseamento; espectrofotometria.

#### **ABSTRACT**

The Meloxicam, has anti-inflammatory and analgesic activity, has high inhibitory and selective activity about the cyclooxygenase (COX-2), being found in concentrations of 7.5 to 15 mg in capsules and tablets that are produced at industrial level and masterful. The main purpose of this work was to develop and validate an analytical methodology by spectrophotometry for the dosing of meloxicam in masterful capsules. Therefore, the method was applied, the samples were diluted in MTBE (methyl tert-butyl ether), so with standard solutions in the concentration range of 5 to 30 µg / mL. The wave length to reading was 342 nm. The analytical methodology presented linearity ( $R^2 = 0,9999$ ) the equation  $y = 0,0585x - 0,1052$ , precision 2,18 ( $CV\% \leq 5\%$ ), accuracy 1,65 and robustness (different wave lengths 342 and 344 nm, different brands of solvents) and selective. Therefore, the developed and validate method presents the characteristics based on the results found and in according with the objectives of this work.

**Keywords:** method; dosing; spectrophotometric.

## INTRODUÇÃO

Denominam-se doenças reumáticas um conjunto de enfermidades, de causa ignorada em sua maioria, que possuem como denominador comum os sintomas dor, reação inflamatória local ou geral, com seu cortejo sintomático próprio e de restrição de movimentos. Os medicamentos manipulados são umas das alternativas as dificuldades de acesso, uma vez, que possuem um custo menor que os medicamentos industrializados. (BATISTUZZO, 2002).

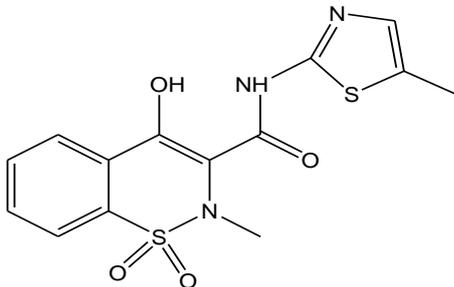
A possibilidade de manipular medicamentos vem crescendo ano após ano, posto que o medicamento manipulado é específico e pode ser diferenciado, quando se associam vários fármacos, a fim de potencializar o resultado desejado (LEAL, 2008; MOTA 2012).

Segundo o Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira 2ª Edição (2012), o controle de qualidade das preparações magistrais e oficinais devem seguir os seguintes critérios: devem ser realizados, no mínimo, os seguintes ensaios, de acordo com a Farmacopéia Brasileira ou outro Compêndio Oficial reconhecido pela ANVISA, em preparações sólidas: descrição, aspecto, caracteres organolépticos e peso médio. Quando realizado o ensaio de peso médio, devem ser calculados também, o desvio padrão e o coeficiente de variação em relação ao peso médio.

Dentre os fármacos mais prescritos em associação na reumatologia encontram-se o Meloxicam, um derivado enolcarboxâmido relacionado com os oxicanos, quimicamente denominado 4-hidroxi-2-metil-N-(5-metil-2-tiazolil)-2H-1,2-benzotiazina-3-carboxamida, possui alta atividade inibitória e seletiva sobre a ciclooxigenase (COX-2), o que lhe confere considerável atividade antiinflamatória e analgésica, além de excelente tolerância com reduzidos efeitos colaterais sobre a mucosa gastrointestinal (Merck, 1996; Korolkovas, 1999; Vade-Mécum, 1999).

O fármaco é bem absorvido por via oral, apresentando biodisponibilidade de cerca de 89% e atingindo a concentração plasmática máxima após 5 a 6 horas. Sua meia vida de eliminação é de aproximadamente 20 horas (Türcket al., 1997; Korolkovas, 1999).

Figura 1 – Estrutura meloxicam



O meloxicam é bastante manipulado na forma de cápsulas em farmácias magistrais e, obedecendo as normas da ANVISA, o fármaco deve ser exatos em sua dosagem. Assim sendo, o objetivo deste trabalho consiste em desenvolver, validar e aplicar um método analítico quantitativo baseando-se em espectrofotometria para determinar o fármaco meloxicam em produtos farmacêuticos manipulados segundo a resolução – 899 da ANVISA.

Validar um processo, equipamento, sistema ou metodologia é tornar legítimo, através do estabelecimento de documentações, tudo que envolve o processo de produção e controle de qualidade, desde as condições do ambiente, até os insumos e matérias-primas que entram em sua composição (VALENTINI, 2013).

O objetivo deste trabalho consiste em desenvolver, validar e aplicar um método analítico quantitativo por espectrofotometria para determinar o fármaco meloxicam em produtos farmacêuticos manipulados segundo a resolução – 899 da ANVISA (BRASIL, 2003).

## MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Padrões e reagentes, reagentes e amostras

Para as etapas correspondentes ao desenvolvimento do método e sua validação, foram utilizadas o padrão de Meloxicam e placebo obtido em cápsulas de gelatina dura na farmácia de magistral de Caruaru.

Material utilizado: micropipeta, balança analítica, vortex, espectrofotômetro UV - VIS shimadzu modelo Uv mini-1240 serial A 109546

Os reagentes utilizados foram: MTBE (éter metil terc-butílico) (J.T. Baker phillipsburg - EUA), grau HPLC.

### 2.2. Preparo das soluções

Para o preparo de todas as soluções foi usado como solvente o MTBE. Inicialmente, preparou-se uma solução mãe pesando-se 50 mg do fármaco em estudo para a obtenção de uma solução de 1 mg/mL. Desta solução transferiu-se alíquotas para os respectivos balões volumétricos de 50 mL e ajustou-se o volume com MTBE. Isto para obter as soluções nas concentrações 5, 10, 15, 20, 25 e 30 µg/mL.

### 2.3. Seleção do comprimento de onda

Estabelecidas as condições do ensaio foi determinado o espectro de absorção, transferindo-se alíquotas de 0,6 mL da solução padrão de

Meloxicam 5000 µg/mL para um tubo de ensaio de 10 mL e completar com MTBE para 2mL, com agitação por 30 segundos no vortex. As leituras das absorbâncias foram efetuadas, contra o branco, no intervalo de 275 a 400 nm, utilizando-se cubetas de quartzo de 1 cm.

#### 2.4. Validação do método analítico

O método analítico foi validado segundo critérios estabelecidos na Farmacopéia Americana 29ª edição (USP, 2006) e no “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos” da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (Brasil, 2003).

#### 2.5 Precisão

A repetitividade do método foi determinada pela análise de seis tomadas de ensaio de 10 mg, obtendo-se soluções na concentração final de 15 µg/mL, realizadas no mesmo dia e pelo mesmo analista. A precisão intermediária e exatidão foram obtidos pela análise da amostra em dois dias diferentes, por dois analistas diferentes, sendo as mesmas realizadas em seis replicatas, na concentração de 15 µg/mL. As absorbâncias das soluções foram medidas em 342 nm, utilizando-se MTBE ajuste do zero. A partir dos resultados obtidos foram calculados o desvio padrão (DP) e o desvio padrão relativo (DPR) do ensaio.

#### 2.6. Recuperação

A exatidão expressa, em porcentagem, foi avaliada a partir da adição e recuperação de quantidades conhecidas de meloxicam, na amostra. Foram preparadas soluções na concentração final de 15µg/mL. As absorbâncias das soluções foram medidas em 342nm, utilizando-se solução da em MTBE para ajuste do zero. A recuperação de 98% a 102% é recomendada para a exatidão do método. O teste foi realizado em triplicata.

#### 2.7. Linearidade

Para o estudo do intervalo foram preparadas soluções em triplicata nas concentrações de 5 a 30 µg/mL de EE SQR em MTBE. Mediram-se as absorbâncias das soluções em 342nm, utilizando-se MTBE para ajuste do zero. Construiu-se a curva analítica nas concentrações de 5, 10, 15, 20, 25 e

30 µg/mL. A equação da reta foi obtida pelo método dos mínimos quadrados. A partir dos resultados obtidos foram calculados o desvio padrão (DP) e o desvio padrão relativo (DPR) do ensaio.

#### 2.8. Limites de detecção e quantificação

Os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) foram determinados a partir da curva analítica e calculados pela relação:  $3 \times \sigma/S$  e  $10 \times \sigma/S$ , respectivamente, onde  $\sigma$  é o desvio padrão do intercepto com o eixo y e S é a inclinação da curva analítica.

#### 2.9. Especificidade

Com a finalidade de verificar a possível interferência dos demais componentes das fórmulas no método e determinar sua especificidade, prepararam-se amostras simuladas isentas de Meloxicam que foram submetidas ao método proposto.

#### 2.10. Robustez

Foi realizado utilizando-se como o comprimento de onda 342nm, diferentes marcas dos solvente, MTBE (Vetec, lote 110738; F2 : J.T. Baker, lote K04C55).

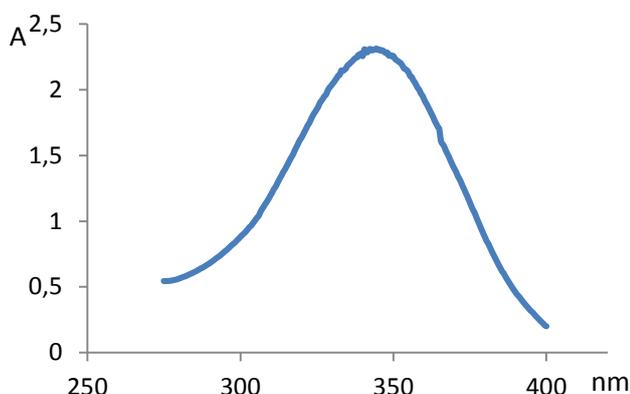
### RESULTADOS E DISCUSSÃO:

#### 3.1. Seletividade

A varredura espectrofotométrica, 275-400nm (Figura 2), realizada para a verificação do comprimento de onda adequado, demonstrou que a EE apresentou pico máximo de absorbância em 206nm, cujo valor foi definido para utilização no desenvolvimento e validação do método analítico por espectrofotometria.

Assim, a seletividade do método foi o primeiro passo no desenvolvimento e validação da metodologia analítica, na qual foi observado que EEapresentou pico de absorção no comprimento de onda de 342 nm, o mesmo não acontecendo com a formulação Branca.

#### Figura 2 – varredura espectrofotométrica



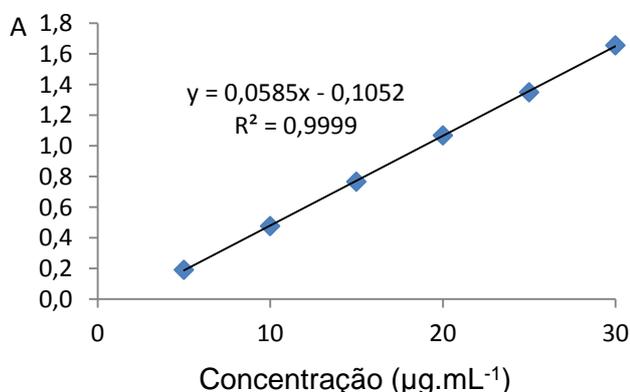
A seletividade deve ser o primeiro parâmetro a ser avaliado no desenvolvimento de um método analítico. Este parâmetro deve ser avaliado continuamente durante a validação e subsequente utilização do método (Silva et al., 2014; Silva et al., 2010). A legislação preconiza que o método pode ser considerado seletivo se nenhum interferente da matriz, sem o fármaco, apresentar absorvância no comprimento de onda específico para a molécula a ser analisada (ICH, 2005; BRASIL, 2003)

Portanto, a metodologia proposta para quantificação do EE demonstrou ser seletivas, uma vez que não houve interferência dos componentes nos pontos específicos de detecção do fármaco (comprimento de onda de 206 nm).

### 3.2. Linearidade

Submetemos nossas amostras a testes para avaliar a capacidade de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais a concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado conforme Figura 3.

**Figura 3 – curva calibração linearidade**



O método proposto por espectrofotometria apresentou linearidade em uma faixa de 5 a 30µg/mL. A curva analítica (Figura 3), obtida em triplicata, pôde ser descrita através da equação  $y = 0,0585x - 0,1052$ , obtida pelo método dos mínimos quadrados, apresentando um coeficiente de correlação (r) igual a 0,99995. O coeficiente de

correlação permite estimar a qualidade e linearidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Um coeficiente de correlação maior que 0,99995 é considerado evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão (Nunes et al., 2005).

A inclinação da curva (coeficiente angular) apresentou valor de desvio padrão igual a 0,0585 e coeficiente de variação de 0,415%. O limite de detecção e o limite de quantificação foram de 0,4µg.mL<sup>-1</sup> e 1,3µg.mL<sup>-1</sup>, respectivamente.

As Tabelas 1 apresentam os dados obtidos durante a determinação da linearidade. Os valores de CV(%) e Exatidão, obtidos durante a avaliação foram inferiores a ±5,0%, com isso atendendo os critérios estabelecidos na RE 899 de 2003 (BRASIL, 2003).

Ao comparar os resultados obtidos com métodos analíticos para determinação meloxicam por CLAE (cromatografia líquida de alta eficiência) o método espectrofotométrico proposto apresenta capacidade similar de determinar o analito em questão, uma vez que a faixa de linearidade do método desenvolvido, pode ser considerada equivalente àquela dos métodos CLAE (LEAL, 2007).

**Tabela 1 – linearidade.** Valores correspondentes (n=3) do método validado.

Conc (ug/mL)	Média (n=3)	DP	CV (%)	Precisão (%)
5	5,075	0,020	0,389	101,49
10	9,975	0,145	1,457	99,75
15	14,926	0,062	0,413	99,51
20	20,077	0,278	1,384	100,39
25	24,898	0,069	0,277	99,59
30	30,112	0,197	0,653	100,37

### 3.4. Precisão e Exatidão

A Tabela 2 apresentam os dados obtidos durante a determinação dos parâmetros precisão e exatidão do método por espectrofotométrico, Para ambos, os valores de CV(%) obtidos durante a avaliação da precisão foram inferiores a 5,0%, Na determinação da exatidão, demonstrou-s e proximidade entre os valores de concentração obtidos pelos métodos e os seus valores teóricos.

**Tabela 2 - Precisão e Exatidão,**Valores, em µg/mL,correspondentes aos parâmetros de

Precisão e Exatidão (n=6) do método validado.

Parâmetro	Conc, teórica	Conc, Obtida	Precisão (%)	Exatidão (%)
Precisão				
Repetibilidade	15	14,841	0,92	-0,06
Precisão Intermediária				
(Dia 1)				
Analista 1	15	14,838	2,18	-1,08
Analista 2	15	15,029	1,22	0,19
(Dia 2)				
Analista 1	15	14,753	1,16	-1,65
Analista 2	15	14,810	2,03	-1,27

Então, nas condições estudadas demonstrou-se que os resultados de exatidão e precisão para o método desenvolvido e validado também estão de acordo com o preconizado na literatura (BRASIL, 2003).

### 3.5. Robustez

As amostras testes foram submetidas para avaliar a robustez, medida da sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos, As modificações avaliadas foram: preparo das soluções de leitura utilizando MTBE proveniente de diferentes fornecedores (F1: J,T, Baker, lote K04C55; F2 : Vetec, lote 110738); leitura das soluções em diferentes comprimentos de onda (342 e 344nm), Foi constatado que o método possui robustez intrínseca, uma vez que manteve suas respostas, em seis replicatas, em meio às variações realizadas, A Tabela 3 mostra os valores obtidos durante a avaliação da robustez do método,

**Tabela 3** – Valores, em µg/mL, correspondentes a determinação da robustez do método espectrofotométrico validado (n=6).

Parâmetro	Conc, teórica	Conc, Obtida	Precisão (%)	Exatidão (%)
A	15	15,029	1,22	0,19
B	15	14,889	1,35	-0,74
C	15	14,991	1,26	-0,06

Legenda: A = Solução em MTBE (fornecedor 1, 342nm); B = Solução em MTBE (fornecedor 2, 342nm); C = Solução em MTBE (fornecedor 1, 344nm),

## CONCLUSÕES

Foi desenvolvido um método inédito, sensível, seletivo, preciso, econômico, reprodutível, robusto e linear na faixa estudada de 5 a 30mg/mL, para detecção e quantificação do ativo utilizado no tratamento de doenças reumatológicas. O método

desenvolvido para quantificar o fármaco em estudo, utilizando a espectrofotometria, mostrou-se de acordo com a RE – 899 (BRASIL, 2003). A técnica utilizada mostrou-se prática, simples e objetiva para a quantificação do medicamento manipulado meloxicam.

## REFERÊNCIAS

BATISTUZZO, José Antonio de Oliveira; ITAYA, Masayuki; ETO, Yukiko. **Formulário Medico-Farmacêutico 4a edição**. Pharmabooks, 2002.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 2 ed. Brasília: Anvisa, 2012.

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

DE SOUSA NUNES, Rogéria et al. Validação de metodologia analítica para doseamento do timol em extratos vegetais de Lippia sidoides Cham por CLAE. **Rev. Bras. Farm**, v. 86, n. 3, p. 87-91, 2005.

International Conference on Harmonisation (ICH), Commission of the European Communities – Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1), Geneva: ICH; 2005.

LEAL, Leila Bastos et al. Desenvolvimento de teste de dissolução para o meloxicam utilizando o planejamento fatorial: estudo comparativo de produtos industrializados x produtos magistrais. **Rev Bras Farm**, v. 89, p. 160-3, 2008.

LEAL, Leila Bastos et al. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para doseamento simultâneo de quatro fármacos utilizados no tratamento de doenças reumatológicas. **Rev. Bras. Farm**, v. 88, n. 1, p. 33-37, 2007.

MOTA, Licia Maria Henrique da et al. 2012 Brazilian Society of Rheumatology Con-sensus

for the treatment of rheumatoid arthritis. **Revista brasileira de reumatologia**, v. 52, n. 2, p. 152-174, 2012.

PORTA, Valentina et al. Determination of meloxicam in human plasma by HPLC. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 215-222, 2005.

SILVA, R, F; UFF, Débora Certório Mendonça. **Estratégias Competitivas no Mercado Farmacêutico Brasileiro**: Uma Abordagem sobre o Setor Magistral.

VALENTINI, Sóstenes Rosa; SOMMER, Willy Arno; MATIOLI, Graciette. Validação de métodos analíticos. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, v. 11, n. 2, p. 26-31, 2013.

