

# Infarma

Conselho Federal de Farmácia

INFARMA • BRASÍLIA • v.21 • 1/2, 2009

ISSN 0104-0219

## ESTUDO COMPARATIVO ENTRE DUAS METODOLOGIAS PARA QUANTIFICAÇÃO DO POLISSACARÍDEO CAPSULAR DE NEISSERIA MENINGITIDIS SOROGRUPO A.

*Anna Carolina Machado Marinho*

## DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS POR CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE-UV) EM MATRIZES NÃO BIOLÓGICAS.

*Liliane Mary Alves Venuto*

## RELAÇÃO ENTRE EDUCAÇÃO, FARMACÊUTICO E SAÚDE: A DIMENSÃO EDUCATIVA DA PRÁTICA FARMACÊUTICA.

*Amouni Mohmoud Mourad; Cristina Magina de Oliveira Cezar Raquel Rizzi Grecchi*

## HIPERTENSÃO ARTERIAL: PRODUTOS NATURAIS, UMA NOVA PERSPECTIVA DE TRATAMENTO

*Melissa Negro Luciano; Vera Lucia Pereira dos Santos Eunice Kyosen Nakamura; Maicon Negro-Luciano; Marcos Juklinski*

## ESTUDO DE UTILIZAÇÃO DE MEDICAMENTOS POR PACIENTES DO JARDIM ELBA (SP)

*Robson Manoel da Silva; João Paulo dos Santos Fernandes*

## IMPLANTAÇÃO DO PROGRAMA 5S EM LABORATÓRIO DE ENSINO

*Fernanda Paiffer; Robson V. M. Oliveira; Marta Maria Duarte Carvalho Vila*

## AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS UTILIZADAS NA MEDICINA POPULAR DA AMAZÔNIA

*Christian Miranda Ribeiro; Kaira Geiliane da Silva Souza Tiago Augusto Chagas Ribeiro; Antonia Benedita Rodrigues Vieira Lúcia Carla Vasconcelos Mendonça; Wagner Luiz Ramos Barbosa José Maria dos Santos Vieira*

## AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE COMPRIMIDOS E CÁPSULAS MANIPULADAS DE NIFEDIPINO COM LIBERAÇÃO RETARDADA.

*Ingrid Kowalski; Giane Márcia Corrêa*

## ESTRATÉGIAS DE ENSINO EM FARMÁCIA. INTEGRAÇÃO DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO E ANÁLISE DA QUALIDADE.

*Iara Lúcia Tescarollo Dias; Sílvia Elisa Acedo Menin; Márcio Cardoso Pinto Helida B. Souza; Jessica D. B. Pinto; Vagner R. Sant'ana*

## ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS TÉCNICAS DE FIBRINOGENIO DOSADO BCT ANALYSER (DADE BEHRING) E DERIVADO ACL 200 (INSTRUMENTATION LABORATORY)

*Paulo Henrique da Silva; Sílvia Aparecida Ramos; Vania Roveda*



**Conselho  
Federal de  
Farmácia**

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

### COORDENAÇÃO

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

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

**21 (1/2)**

# NORMAS PARA APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS

## Informações gerais

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

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

## PREPARAÇÃO DOS ORIGINAIS

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

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

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

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

### • Livros e outras monografias

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

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

### • Capítulos de livros

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

### • Teses e dissertações

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

### • Artigos de periódicos

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

Exemplo:

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

### • Trabalho de congresso ou similar (publicado)

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

### • Manuais

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

### • Citações da Internet

BRASIL. Conselho Federal de Farmácia. Resolução 357. Disponível em: [http://www.cff.org.br/legislação/resoluções/res\\_357\\_2001.htm](http://www.cff.org.br/legislação/resoluções/res_357_2001.htm). Acesso em: 11 jan. 2004.

[www.cff.org.br/legislação/resoluções/res\\_357\\_2001.htm](http://www.cff.org.br/legislação/resoluções/res_357_2001.htm). Acesso em: 11 jan. 2004.

### • Citação no texto

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

### • Anexos e/ou apêndices

Serão incluídos somente, quando imprescindíveis à compreensão do texto.

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

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

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

## RESPONSABILIDADE

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

# ESTUDO COMPARATIVO ENTRE DUAS METODOLOGIAS PARA QUANTIFICAÇÃO DO POLISSACARÍDEO CAPSULAR DE *NEISSERIA MENINGITIDIS* SOROGRUPO A.

ANNA CAROLINA MACHADO MARINHO

Trabalho vencedor do Prêmio Jayme Torres 2008, na categoria "Farmacêuticos" na Área de atuação Análises Clínicas e Toxicológicas.

Avenida Monsenhor Félix, 340 bloco A, Apto. 303, Irajá – Rio de Janeiro, Tel.: (21) 3013-1660

## INTRODUÇÃO

As meningites bacterianas continuam sendo um grande problema de saúde pública no Brasil e no mundo, constituindo importante causa de morbimortalidade na infância. Em todo o mundo, sem epidemias, ocorre um milhão de casos de meningite bacteriana por ano. Estas doenças são quase sempre emergências médicas e estão associadas a elevadas taxas de mortalidade, daí a preocupação (e a publicidade) a que estão habitualmente associadas [13].

Estima-se a ocorrência de pelo menos 500 mil casos de doença meningocócica (DM) por ano no mundo, com cerca de 50 mil óbitos [13].

É uma doença de evolução rápida e com alta letalidade, que varia de 7 até 70%, causada pela *Neisseria meningitidis*. Mesmo em países com assistência médica adequada, a *meningococemia* pode ter uma letalidade de até 40% [13].

A DM foi primeiramente descrita em 1906 no Brasil. Desde então tem ocorrido esporadicamente, sendo mais freqüente nos meses frios. Em intervalos regulares, a doença aparece em ondas epidêmicas que podem durar de dois a cinco anos [13].

Entre os anos de 1945 e 1961 ocorreu a primeira epidemia, causada pelo sorogrupo A numa taxa de incidência de 25 casos por 100.000 habitantes. No início da década de 70 houve outra grande epidemia causada pelos sorogrupos A e C, com taxas de incidência de 170 casos por 100.000 habitantes em determinadas cidades do país, tendo voltado a valores endêmicos a partir de 1976 [11].

Existem 13 sorogrupos identificados de *N. meningitidis*, porém os que mais freqüentemente causam doença são o A, o B, o C, o Y e o W135 [4,12].

A cápsula polissacarídica é um fator associado à virulência, importante por conferirem aos meningococos propriedades antifagocitárias e antibacterianas. E por isso facilitam a sobrevivência das bactérias durante sua invasão na

corrente sanguínea ou do líquido cefalorraquidiano [10]. Os principais polissacarídeos capsulares meningocócicos são formados por derivados do ácido siálico (ácido N-acetilneuramínico ou NANA) (Tabela 1), exceto o sorogrupo A que é formado por unidades repetidas de N-acetilmanosamina-1-fosfato, figura 1, com ligações alfa e é codificada por um cassete biossintético de quatro genes, específico para esse grupo [6].

**Tabela 1.** Estrutura do polissacarídeo capsular de diferentes sorogrupos [4].

Sorogrupo	Natureza Química
A	$\rightarrow 6)-\alpha\text{-D-ManNAc-(1-PO}_4\text{-}\rightarrow$ 3 $\uparrow$ OAc
B	$\rightarrow 8)-\alpha\text{-D-NeuNAc-(2}\rightarrow$
C	$\rightarrow 9)-\beta\text{-D-NeuNAc (2}\rightarrow$ 7/8 $\uparrow$ OAc
H	$\rightarrow 4)-\alpha\text{-D-GalNAc-(1}\rightarrow 3)-\beta\text{-D-ManNAcA-(1}\rightarrow$
L	$\rightarrow 3)-\alpha\text{-D-GlcNAc-(1}\rightarrow 3)-\beta\text{-D-GlcNAc-(1}\rightarrow 3)$ $\alpha\text{-D-GlcNAc1-PO}_4\text{-}\rightarrow$
X	$\rightarrow 4)-\alpha\text{-D-GlcNAc-1PO}_4\text{-}\rightarrow$
Y	$\rightarrow 6)-\alpha\text{-D-Glc (1}\rightarrow 4)-\alpha\text{-D-NeuNAc-(2}\rightarrow\text{(OAc)}$
W135	$\rightarrow 6)-\alpha\text{-D-Gal (1}\rightarrow 4)-\alpha\text{-D-NeuNAc-(2}\rightarrow$
Z	$\rightarrow 3)-\alpha\text{-D-GalNAc (1}\rightarrow 1)\text{-glicerol-3-PO}_4\text{-}\rightarrow$
29E	$\rightarrow 7)-\beta\text{-D-KDO-(1}\rightarrow 3)-\alpha\text{-D-GalNAc-(1}\rightarrow$

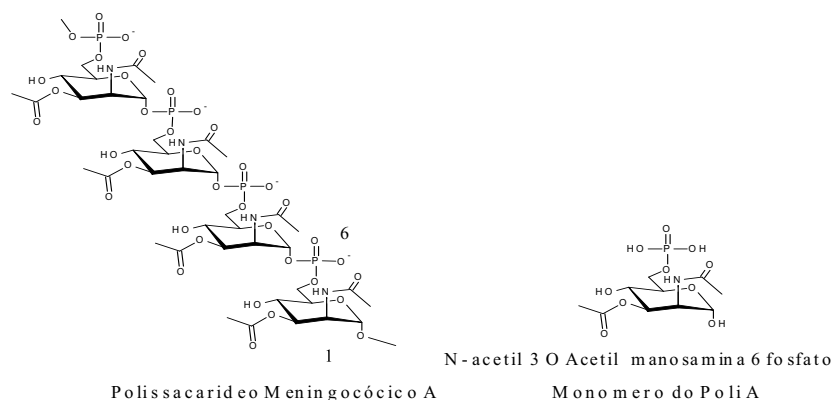


Figura 1. Estrutura molecular de Manosamina-6-fosfato (2-amino-2-deoxy-6-phosphate -  $\beta$ -D-Mannopyranose  $\beta$ -D-ManN-6-PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>) [4].

Em todos os medicamentos a padronização segundo normas de qualidade rígidas é fundamental para a garantia da eficácia e segurança no seu uso. No caso das vacinas essas normas são extremamente rígidas devido a algumas peculiaridades desse tipo de produto [16].

Vacinas contra a meningite foram às primeiras vacinas fabricadas com antígenos com uma identidade química perfeita, diferente de vacinas celulares que utilizam microorganismos inativados (p.e. coqueluche), atenuados (pólio) ou toxinas inativadas pelo formaldeído (tétano). Por esse motivo as vacinas contra meningite foram as primeiras a ter seu controle de qualidade baseado em métodos físico químicos [14].

O método de Chen está descrito na Farmacopéia Européia 5ª edição para quantificação de fósforo, porém convém avaliar sua equivalência com o método cromatográfico através de parâmetros de validação para garantir a eficácia e segurança do novo método [3].

A cromatografia de troca iônica, que geralmente é chamada de cromatografia iônica, refere-se a métodos modernos e eficientes de separação e determinação de íons com base em resinas trocadoras de íons [9].

Esta cromatografia acoplada com detecção amperométrica pulsada é um método recente para quantificação de carboidratos. A separação é baseada na interação iônica entre a carga negativa do carboidrato devido à utilização de fase móvel alcalina (pH > 12,0), com a resina aniônica [5].

Para assegurar e demonstrar que um determinado método está cientificamente coerente, sob as condições nos quais o mesmo deve ser aplicado, são descritos parâmetros (experimentos) que comprovem sua eficácia, recebendo o nome de validação [1,15].

Os parâmetros a serem avaliados dependem da finalidade da metodologia analítica a ser empregada. Tais parâmetros são: especificidade, linearidade, Intervalo, precisão, limite de quantificação, limite de detecção exatidão e robustez. [2,8].

Para estudo comparativo das duas metodologias serão avaliados somente os parâmetros de linearidade e

homocedasticidade, precisão e exatidão, demonstrando assim, se a nova metodologia garante a determinação do polissacarídeo capsular sorogrupo A com acurácia.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Reagentes, padrões e amostras.

Para análise por cromatografia foi utilizado para o preparo dos eluentes, NaOH 50% (Merck). O ácido trifluoracético (TFA) utilizado para hidrólise e o acetato de sódio para o preparo do eluente (Merck). Mini-vials (1,5mL, Ependorff) para hidrólise ácida. Vials (2,5 mL, Wheaton) para injeções automáticas no cromatógrafo. Água grau HPLC (Milli-Q). O padrão de polissacarídeo A obtido do Laboratório de Controle de Qualidade físico-químico de Bio-Manguinhos. Liofilizador para secar as amostras (Thermo).

Para a realização da análise espectrofotométrica foram utilizados ácidos perclórico 70%, sulfúrico e molibdato de amônio (Merck). Ácido ascórbico (Sigma). Água Milli-Q (Millipore). Como padrão foi utilizado fosfato dibásico de potássio (Merck). Termobloco à 250° (Frlabo), banho-maria (Callmex) e agitador (Vórtex).

Para quantificação do polissacarídeo capsular de *N. meningitidis* sorogrupo A serão utilizadas amostras da etapa de purificação da vacina contra este sorogrupo onde foram preparadas e analisadas no laboratório de controle de processos de vacinas bacterianas em Biomanguinhos e no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde - INCQS, situados na Fiocruz.

### 2.2. Sistema espectrofotométrico

O método espectrofotométrico segue os procedimentos de Chen que consiste na determinação de fósforo onde será convertido para manosamina-6-fosfato através da relação que 2.5  $\mu$ g/mL de manosamina-6-fosfato (0.125  $\mu$ g injetado), corresponde a 0.011  $\mu$ g de fósforo utilizando espectrofotômetro Beckman DU Series 500 e cubeta em quartzo de 1 cm Brand para análise.

### 2.3. Sistema cromatográfico

Sistema Dionex com bomba GP 50, sistema de detecção ED 40, autosampler AS50 e software Peaknet 6.3. Colunas analíticas CarboPac PA-10 e Íon Pac AS 11 (4 x 250 mm) e pré-colunas borato trap, amino trap e ion Pac AG11 (4 x 50mm). Um potencial-quadrupolo foi aplicado utilizando os seguintes parâmetros: E1\_0.1 V, t1\_400 ms; E2\_2.0 V, t2\_20 ms; E3\_0.6 V, t3\_10 ms; E4\_0.1 V, t4\_60 ms.

### 2.4. Procedimento para determinação de fósforo

#### 2.4.1. Preparo da curva de calibração e amostra

Para a determinação de fósforo foram preparadas diluições, em tubo de ensaio, a partir da solução de trabalho de fósforo 3,2µg/mL nas concentrações 0,2, 0,4, 0,8, 1,6, 3,2 µg/mL.

Foram utilizadas 4 (quatro) amostras da etapa de purificação da vacina, identificadas como amostra 1, amostra 2, amostra 3 e amostra 4. Para cada 100µL da amostra foi adicionado 100µL do reativo de mineralização, no qual adicionou-se 5,0mL de ácido sulfúrico concentrado e em seguida completou-se o volume com ácido perclórico 70% em balão volumétrico de 10mL. Após a adição do reativo de mineralização, os tubos de ensaio foram levados ao termobloco à 250°C por 4 horas, exceto os tubos contendo a solução de trabalho de fósforo. Deixou-se esfriar e em seguida foi acrescentado a cada tubo-amostra 3,9mL de água Milli-Q e 4,0mL do reativo de coloração nos tubos-amostra e padrão, no qual adicionou-se 24mL de água Milli-Q, 12mL de ácido sulfúrico 6N, 12mL de molibdato de amônia 2,5% e 12mL de ácido ascórbico 10% em proveta de 100mL. Homogeneizou-se. Esta solução deve ser preparada no momento de sua utilização. Agitaram-se os tubos e colocou-se o conjunto de tubos em banho-maria à 37° C por 2 horas. Após o tempo de espera, retirou-se os tubos do banho-maria

e procedeu-se à leitura em espectrofotômetro Beckman DU Series 500 a 825nm.

### 2.5. Procedimento para determinação de manosamina -6-fosfato.

#### 2.5.1. Preparo da curva de calibração e amostra

Para a determinação de manosamina-6- fosfato foram preparadas diluições, em balão volumétrico, da solução padrão de polissacarídeo A 200 µg/mL nas concentrações de 0,625, 1,25, 2,00, 5,00, 10,0 µg/mL.

Para estudo comparativo e avaliação dos resultados foram utilizadas as mesmas amostras para o método espectrofotométrico, anteriormente identificadas como amostra 1, amostra 2, amostra 3 e amostra 4.

Foi retirada de cada amostra, com auxílio de pipeta automática 500µL para diferentes mini-vials de 1,5mL e acrescentou 500µL de TFA 2N recentemente preparado. Os mini-vials foram colocados em termobloco a 80°C por 3 horas. Após o tempo de hidrólise, as amostras foram liofilizadas e re-suspendidas para 1mL com água Milli-Q. Os mini-vials foram agitados e transferidos para vials de 2,5mL para serem injetados no cromatógrafo utilizando como eluente hidróxido de sódio 11mM isocrático, coluna analítica Íon Pac AS 11 e Guard AG 11, fluxo 1 mL/min, volume do loop de 25µL.

## RESULTADOS

### 3.1. Método espectrofotométrico

#### 3.1.1. Linearidade e avaliação da homocedasticidade

Para avaliação da linearidade do método foi feita análise em triplicata de 5 concentrações diferentes da solução de trabalho de fósforo 3,2µg/mL. Foram preparadas três curvas de calibração em três dias distintos para verificação de possíveis diferenças de comportamento linear com variação do dia da análise. Os resultados estatísticos são mostrados na tabela abaixo.

**Tabela 2.** Resultados estatísticos para linearidade.

Parâmetros	Padrão 1	Padrão 2	Padrão 3	Padrão 4	Padrão 5
Absorbância 1	0,083	0,170	0,339	0,669	1,337
Absorbância 2	0,087	0,170	0,336	0,663	1,333
Absorbância 3	0,084	0,171	0,341	0,662	1,335
Média	0,085	0,170	0,339	0,665	1,335
Desvio Padrão (DP)	0,002	0,001	0,003	0,004	0,002
DPR %	2,459	0,339	0,743	0,570	0,150
Grubbs 1	0,801	0,879	1,124	1,145	1,097
Grubbs 2	1,121	0,209	1,060	1,125	1,000
Grubbs 3	1,039	1,155	0,927	0,651	0,000
Grubbs tabelado	<b>1,155</b>	<b>1,155</b>	<b>1,155</b>	<b>1,155</b>	<b>1,155</b>
Variança	4,333E-06	3,333E-07	6,333E-06	1,433E-05	4,000E-06
Σ Variança	2,933E-05				
Cockran (C)	0,489				

### 3.1.2. Precisão

Para avaliação da precisão do método foram preparadas individualmente, 4 amostras (Amostras 1, 2, 3 e 4), de acordo com o item 2.4.1, para avaliação do desvio padrão relativo

(DPR). Para repetibilidade e precisão intermediária foram feitas análises desta amostra em triplicata e em três dias diferentes. Os resultados se encontram na tabela abaixo.

**Tabela 3.** Resultados das amostras para avaliação da precisão do método espectrofotométrico. Os resultados foram calculados baseados na média da triplicata em dias diferentes.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4
Concentração 1 ( $\mu\text{g/mL}$ )	50,388	35,871	25,756	15,440
Concentração 2 ( $\mu\text{g/mL}$ )	50,785	34,976	23,609	14,683
Concentração 3 ( $\mu\text{g/mL}$ )	51,916	34,724	24,259	14,893
Média	51,030	35,191	24,541	15,005
Desvio Padrão (DP)	1,183	0,895	1,241	0,855
Limite de confiança	0,683	0,517	0,716	0,494
Intervalo de Confiança 95%	$51,03 \pm 0,7$	$35,19 \pm 0,5$	$24,54 \pm 0,7$	$15,01 \pm 0,5$
DPR %	2,325	2,549	5,091	5,850
Grubbs 1	0,755	0,721	0,894	0,526
Grubbs 2	0,799	0,583	0,990	0,526
Grubbs 3	0,596	0,908	0,310	1,052

### 3.1.3. Exatidão

A exatidão do método foi avaliada preparando a amostra 1 e padrão nas mesmas condições para precisão. Estas preparações foram analisadas individualmente. Foi

feita adição padrão na amostra dos pontos 1, 3 e 5 da curva de calibração e analisados. Foi calculado o percentual de recuperação da amostra. Os resultados encontram-se na tabela abaixo respectivamente.

**Tabela 4.** Resultados para amostra e padrão individualmente.

Parâmetros	Padrão 1	Padrão 3	Padrão 5	Amostra 1
Absorbância 1	0,083	0,341	1,340	0,046
Absorbância 2	0,082	0,338	1,334	0,045
Absorbância 3	0,084	0,340	1,338	0,046
Média	0,083	0,339	1,337	0,046
Desvio Padrão (DP)	0,001	0,002	0,003	0,001
DPR %	1,205	0,451	0,229	1,264

**Tabela 5.** Resultados após adição padrão nas amostras para avaliação do percentual de recuperação.

Parâmetros	Amostra 1 + Padrão 1	Amostra 1 + Padrão 3	Amostra 1 + Padrão 5
Absorbância 1	0,050	0,145	0,500
Absorbância 2	0,053	0,140	0,503
Absorbância 3	0,052	0,145	0,510
Média	0,052	0,143	0,504
Desvio Padrão (DP)	0,002	0,003	0,005
DPR %	0,001	0,002	0,003
Limite de confiança	0,011	0,021	0,038
Intervalo de Confiança	$0,052 \pm 0,01$	$0,143 \pm 0,02$	$0,504 \pm 0,04$
% RECUP. 1	77,519	75,325	72,307
% RECUP. 2	82,171	72,727	72,740
% RECUP. 3	80,620	75,325	73,753
Média %	80,103	74,459	72,933
Média Total %			<b>75,832</b>

### 3.2. Método cromatográfico

#### 3.2.1. Determinação utilizando coluna CarboPac PA 10

Para obter a melhor separação cromatográfica foram avaliadas duas diferentes colunas, CarboPac PA10 e AS 11, figura 2.

#### 3.2.2. Perda da linearidade

Ao preparar um padrão com concentração de 20,0µg/mL e injetado em triplicata, o cromatograma apresentou um perfil satisfatório com separação eficiente, figura 3, mas a linearidade do método foi perdida com adição deste ponto na curva como mostrado na figura 4 já que o coeficiente de correlação está menor que 0,999.

#### 3.2.3. Linearidade e avaliação da homocedasticidade

A avaliação deste parâmetro foi avaliada através da análise em triplicata de 5 concentrações diferentes da solução padrão de polissacarídeo A a 200µg/mL, de acordo com a tabela 6. Foram preparadas três curvas de calibração em três dias distintos para verificação de possíveis diferenças de comportamento linear com variação do dia da análise.

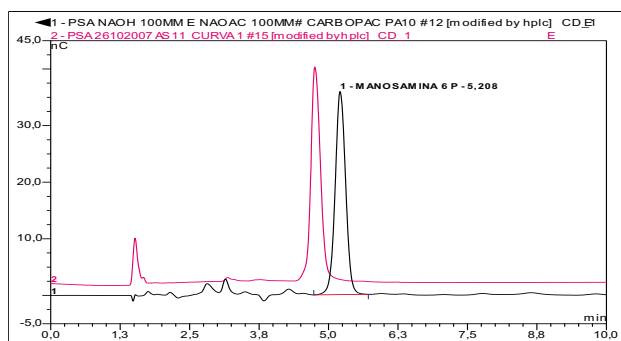


Figura 2. Cromatogramas mostrando o perfil cromatográfico utilizando diferentes colunas. Condições: Em preto utilizando como eluente NaOH 100mM e acetato de sódio 100mM, Coluna CarboPac PA10, Fluxo: 1,0mL/min, Volume de injeção: 25µL. Em rosa utilizando como eluente NaOH 11mM, Coluna AS 11 Fluxo: 1,0mL/min, Volume de injeção: 25µL. O pico de manosamina-6-fosfato é identificado.

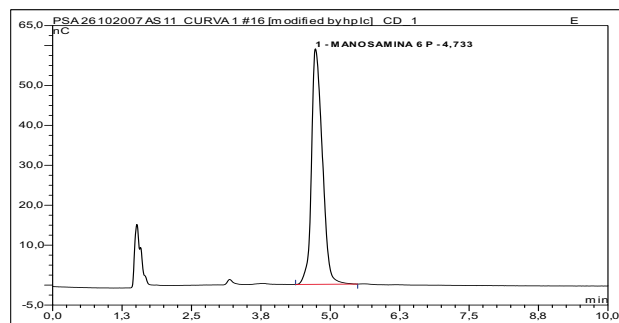


Figura 3. Cromatograma com padrão 20,0µg/mL. Condições: Eluente NaOH 11mM, Fluxo: 1,0mL/min, Volume de injeção: 25µL. Coluna AS 11 O pico de manosamina-6-fosfato é identificado.

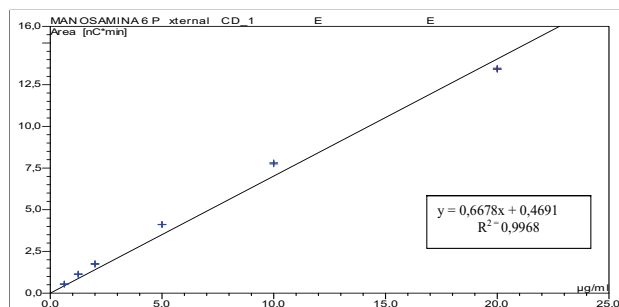


Figura 4. Curva de calibração mostrando que a linearidade do método foi perdida com adição do padrão 20,0µg/mL, último ponto na curva.

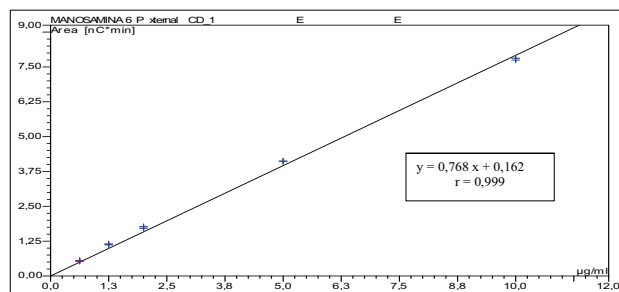


Figura 5. Curva de calibração para o método cromatográfico.

Tabela 6. Resultados estatísticos para linearidade.

Parâmetros	Padrão 1	Padrão 2	Padrão 3	Padrão 4	Padrão 5
Área 1	0,533	1,113	1,709	4,119	7,744
Área 2	0,540	1,128	1,757	4,106	7,795
Área 3	0,524	1,157	1,772	4,123	7,819
Média	0,532	1,133	1,746	4,116	7,786
Desvio Padrão (DP)	0,008	0,022	0,033	0,009	0,038
DPR %	1,507	1,975	1,885	0,216	0,492
Grubbs 1	0,083	0,879	1,124	0,338	1,097
Grubbs 2	0,956	0,209	0,334	1,125	0,235
Grubbs 3	1,039	1,088	0,790	0,788	0,862
Grubbs tabelado	<b>1,155</b>	<b>1,155</b>	<b>1,155</b>	<b>1,155</b>	<b>1,155</b>
Variança	6,433E-05	5,003E-04	1,083E-03	7,900E-05	1,467E-03
Σ Variança	3,194E-03				
Cockran (C)	0,459				
Cockran (C) tabelado	<b>0,684</b>				

### 3.2.4 Precisão

Para o método cromatográfico foram preparadas individualmente, as mesmas amostras utilizadas para ava-

liação do método tradicional. A repetibilidade e precisão intermediária foram avaliadas nas mesmas condições. Os resultados se encontram na tabela 7.

**Tabela 7.** Resultados das amostras para avaliação da precisão do método cromatográfico. Os resultados foram calculados baseados na média da triplicata em dias diferentes.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4
Concentração 1 ( $\mu\text{g/mL}$ )	50,565	33,945	21,281	14,289
Concentração 2 ( $\mu\text{g/mL}$ )	50,403	33,579	21,082	14,315
Concentração 3 ( $\mu\text{g/mL}$ )	50,532	33,958	21,283	14,291
Média	50,500	33,828	21,215	14,298
Desvio Padrão (DP)	0,300	0,278	0,142	0,206
Limite de confiança	0,173	0,161	0,082	0,119
Intervalo de Confiança	50,50 $\pm$ 0,17	33,83 $\pm$ 0,16	21,22 $\pm$ 0,08	14,30 $\pm$ 0,12
DPR %	0,594	0,823	0,668	1,427
Grubbs 1	0,440	0,818	0,700	0,685
Grubbs 2	0,911	0,876	0,900	0,730
Grubbs 3	0,905	0,501	0,591	0,797

### 3.2.5. Exatidão

A exatidão do método foi avaliada preparando a amostra 1 e padrão nas mesmas condições para precisão. Estas preparações foram analisadas individualmente.

Foi feita adição padrão na amostra dos pontos 1, 3 e 5 da curva de calibração e analisados. Foi calculado o percentual de recuperação da amostra. Os resultados encontram-se na tabela abaixo respectivamente.

**Tabela 8.** Resultados para amostra e padrão individualmente.

Parâmetros	Área Padrão 1 (P1)	Área Padrão 3 (P3)	Área Padrão (P5)	Amostra
Área 1 (nC * min)	0,533	1,709	7,744	2,605
Área 2 (nC * min)	0,540	1,757	7,795	2,404
Área 3 (nC * min)	0,524	1,772	7,819	2,511
Média	0,532	1,746	7,786	2,507
Desvio Padrão (DP)	0,008	0,033	0,038	0,101
DPR %	1,508	1,885	0,492	4,012

**Tabela 9.** Resultados após adição padrão nas amostras para avaliação do percentual de recuperação.

Parâmetros	Amostra 1 + P1	Amostra 1 + P3	Amostra 1 + P5
Área 1 (nC * min)	1,491	2,197	5,000
Área 2 (nC * min)	1,448	2,157	5,019
Área 3 (nC * min)	1,486	2,085	5,057
Média	1,475	2,146	5,026
Desvio Padrão (DP)	0,024	0,057	0,029
DPR %	0,014	0,033	0,017
Limite de confiança	0,173	0,419	0,214
Intervalo de Confiança	1,475 $\pm$ 0,17	2,146 $\pm$ 0,42	5,026 $\pm$ 0,21
% RECUP. 1	98,098	103,334	97,159
% RECUP. 2	95,275	101,448	97,521
% RECUP. 3	97,808	98,034	98,269
Média %	97,060	100,939	97,650
Média Total %			<b>98,550</b>



### 3.2.6 Seletividade

Para a avaliação da seletividade foi utilizada uma preparação do polissacarídeo retirado da etapa de purificação denominada Amostra 5, para avaliar o quanto o método é capaz de diferenciar a manosamina-6-fosfato dos demais componentes da matriz.

Como objetivo de verificar a relação existente entre a seletividade e a concentração de manosamina-6-fosfato foram preparadas 3 diferentes diluições e para cada diluição foram feitas 3 injeções no cromatógrafo. Esta relação é demonstrada na figura abaixo.

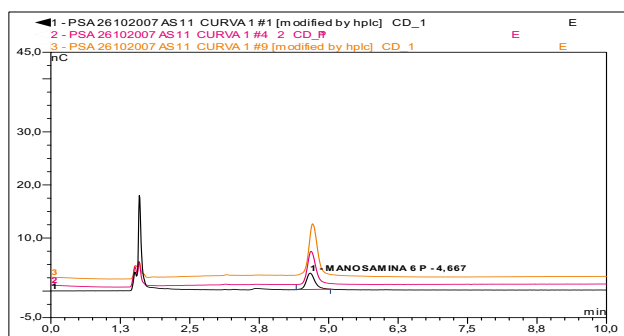


Figura 10. Cromatograma mostrando a relação existente entre a seletividade e a concentração de manosamina-6-fosfato. Em preto corresponde a uma concentração de 0,625 µg/mL de manosamina-6-fosfato. Em rosa de 1,25 µg/mL e em laranja de 5,00 µg/mL.

## DISCUSSÃO

### 4.1. Método espectrofotométrico

#### 4.1.1. Linearidade e avaliação da homocedasticidade

Na tabela 2 se encontra a média das aborbâncias em dias diferentes, não observando valor aberrante para este parâmetro. O método demonstrou ser homocedástico, pois foi encontrado valor de Cockran menor que o tabelado. Sendo assim, a curva de calibração pode ser calculada pelo método dos mínimos quadrados.

Após a construção da curva de calibração foi observado que o coeficiente de correlação ( $r$ ) foi de 0,9946, possuindo uma variação maior que 0,001, não sendo satisfatório para linearidade.

De acordo com a tabela 3 pode-se afirmar que o DPR não foi satisfatório para as amostras 3 e 4, pois o valor para o desvio padrão relativo (DPR) não deve passar de 5%. E que não se observou nenhum valor aberrante, pois os resultados de Grubbs foram menores que o tabelado (1,155) para  $n=3$ , número de replicatas em cada amostra.

O percentual de recuperação não se encontra dentro do faixa aceitável de 95-105%, tabela 5, para os resultados individuais e de 98-102% para a média dos resultados, demonstrando que o método é pouco exato. Esta baixa recuperação pode ser explicada devido às dificuldades du-

rante a análise como homogeneidade da temperatura nas cavidades do termobloco.

A seletividade do método espectrofotométrico não é aplicada já que é uma metodologia tradicional preconizada pela Organização Mundial de Saúde e Farmacopéia 5ª edição.

### 4.2. Método cromatográfico

Foi utilizada a coluna CarboPac PA10, coluna tradicionalmente usada para a separação de açúcares neutros. A coluna AS11 é utilizada tradicionalmente para a separação de ânions inorgânicos. O pKa da manosamina fosfato é próximo ao do ácido fosfórico, possibilitando o uso dessa coluna. Em conjunto com a coluna analítica CarboPac 10 foram utilizadas pré-colunas borato trap e amino trap, como eluente isocrático acetato de sódio 100mM e NaOH 100mM.

Obteve-se um perfil cromatográfico não satisfatório, pois há detecção de interferentes que com a coluna analítica AS 11, pré-coluna ion Pac AG11 e eluente isocrático NaOH 11mM isto não é mostrado, designando esta coluna para a melhor separação cromatográfica para manosamina-6-fosfato, Figura 07.

Após a escolha da coluna AS 11 foi estabelecido o intervalo de concentração para avaliação da linearidade de 0,625 µg/mL a 10,0 µg/mL de manosamina-6-fosfato, já que a linearidade do método foi perdida com a adição do ponto na concentração de 20,0 µg/mL apresentando coeficiente de correlação menor que 0,999, figura 4.

Na tabela 6, encontra-se a média das áreas em dias diferentes e os parâmetros avaliados mostrando que o método é homocedástico. A curva de calibração foi calculada pelo método dos mínimos quadrados pois foi encontrado valor de Cockran menor que o tabelado. Não se observa valor aberrante para este parâmetro. O coeficiente de correlação foi satisfatório apresentando valor de 0,999 para as três curvas de calibração.

Pode-se observar que para o parâmetro de precisão, o DPR foi satisfatório para todas as amostras. Não foi observado nenhum valor aberrante segundo o teste de Grubbs.

O percentual de recuperação encontra-se dentro do faixa aceitável de 95-105% para os resultados individuais e de 98-102% para a média dos resultados, demonstrando que o método é exato.

A seletividade de um procedimento analítico é determinada através da análise de amostras em misturas complexas, sem a interferência de outros componentes da amostra

O método demonstrou ser específico para a substância em questão, pois detectou o pico de manosamina-6-fosfato sem algum interferente, em tempo de retenção compatível com o tempo encontrado para os padrões

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, ao Professor Filipe Soares, Carla Wolanski e ao Instituto BioManguinhos/Fiocruz.

## CONCLUSÃO

Diante da avaliação dos resultados obtidos estatisticamente sugere-se que o método cromatográfico é o mais seguro para determinar manosamina-6-fosfato, pois os desvios padrões são menores que 5%, valor de intercepto dentro do intervalo de confiança mostrando que o mesmo trabalha apenas com erros aleatórios. O percentual de recuperação está entre 98–102% e apresentou boa seletividade, pois determinou a substância de interesse na presença de outros interferentes. Já o método espectrofotométrico, seguindo os procedimentos de Chen, apesar de recomendada pela Organização Mundial de Saúde e Farmacopéia Européia 5ª edição, não foi a melhor metodologia mais indicada para a quantificação de fósforo, em nosso laboratório, por apresentar uma série de dificuldades durante a análise. Tais elas são: Problemas na digestão das amostras devido às variações de temperatura nas cavidades do termo-bloco durante todo o tempo de 4 horas e que a mesma deveria ser constante com o passar do tempo. Para análise de rotina não seria de melhor escolha devido o tempo gasto para obter a concentração final do analito e os resultados estatísticos não foram satisfatórios em relação ao percentual de recuperação e coeficiente de correlação.

Para que a metodologia cromatográfica seja implantada realmente se faz necessário prosseguir com o estudo de validação dando continuidade nos experimentos estabelecidos pelas normas vigentes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DA VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899\\_03re.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm) Acesso em: 12/09/2007
2. CELS, M. C., FORA, S. G., FORN, M. P., ROCA, J. M. S., PLA, L. V. Validación de Métodos Analíticos. AEFI, Sección Catalana, Comisión de Normas de Buena Fabricación y Control de Calidad, p. 100, 1996.
3. CHEN, P.S., TORIBARA, T.Y., WARNER, Huber. Microdetermination of phosphorus. *Analytical Chemistry*, v. 28, n. 11, p. 1756-1758, novembro 1956.
4. GOLDBLATT D., POLLARD A. J., Meningococcal Vaccines Methods and Protocols Humana Press, v.66, p. 23-44, 2001.
5. HARDY, Mark R., TOWNSEND, Reid R., LEE, Yuan C. Monosaccharide analysis of glycoconjugates by anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *Analytical Biochemistry*, v. 170, p. 54–62, 1988.
6. HARRISON, T. R., **Princípios da Medicina Interna** 16. ed. McGraw-Hill, p. 893-899, 2003.
7. HUNOLSTEIN, Christina V., PARISI, Laura, BOTTARO, Dario. Simple and rapid technique for monitoring the quality of meningococcal polysaccharides by high performance size – exclusion chromatography. *Journal of Biochemical Biophysical Methods*, v. 56, p.291-296, 2003.
8. ICH Q2 (R1), **Validation of analytical procedures: text and methodology**. Genebra, Novembro de 2005.
9. MECHREF, Yehia, NOVONTY, Milos V., Structural investigations of glycoconjugates at high sensitivity. *Chemicals Reviews*, Indiana, v. 102, n. 2, p. 321-369, janeiro 2002.
10. MORLEY, S.L., POLLARD A. J. Vaccine prevention of meningococcal disease, coming soon? *Vaccine*, v. 20, p. 666-687, 2002.
11. QUADROS, Ciro A.; **Vaccines Preventing Disease Protecting Health**. Pan American Health Organization, p. 99-103, 2004.
12. RICCI S., BARDOTTI Â., D'ASCENZI S., RAVENSCROFT N. Development of a new method for the quantitative analysis of the extracellular polysaccharide of *Neisseria meningitidis* serogroup A by use of high-performance anion-exchange chromatography with pulsed-amperometric detection. *Vaccine*. v.19, p. 1989-1997, 2001.
13. SANTOS M. L., NETTO A. R. Doença meningocócica: situação epidemiológica no Município de Manaus, Amazonas, Brasil, 1998/2002 *Caderno de Saúde Pública*, v.3, p.823-829, Rio de Janeiro 2005.
14. SÁFADI, Marco A., BARROS, Analíria P., Vacinas meningocócicas conjugadas: eficácia e novas combinações. *Jornal de Pediatria*, v. 82, n. 3, p.s34-s44, 2006.
15. SWARTZ, M. E., KRULL, I. S. Validação de métodos cromatográficos. *Pharmaceutical Technology*, v.2, n.3, p. 12-20 junho de 1998.
16. World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. **Recommendations to assure the quality, safety and efficacy of group A meningococcal conjugate vaccines**. p. 8-18, Geneva 2006.

# DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO PARA A DETERMINAÇÃO SIMULTÂNEA DE FÁRMACOS ANTINEOPLÁSICOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA (CLAE-UV) EM MATRIZES NÃO BIOLÓGICAS.

LILIANE MARY ALVES VENUTO

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas, UNIFAL-MG. Gabriel Monteiro da Silva, 714, CEP 37130-000, Alfenas, MG.

E-mail: lilianevenuto@yahoo.com.br

Trabalho vencedor do Prêmio Jayme Torres 2008 na categoria "Jovens Farmacêuticos" na Área de atuação Análises Clínicas e Toxicológicas

## INTRODUÇÃO

O termo neoplasia é originário do grego *neo*, que significa novo, e *plasia*, algo formado e é usado como sinônimo para todo o crescimento celular anormal. Esta anomalia da multiplicação celular (malignidade celular) tem como característica principal o crescimento desordenado de células que invadem os tecidos e órgãos, podendo espalhar-se (metástases) para outras regiões do corpo. Dividindo-se rapidamente, estas células tendem a ser muito agressivas e incontroláveis, determinando a formação de tumores (acúmulo de células cancerosas) ou neoplasias malignas (16). Por outro lado, um tumor benigno significa simplesmente uma massa localizada de células que se multiplicam vagarosamente e se assemelham ao seu tecido original, raramente constituindo um risco de morte (12).

Segundo Chu & Sartorelli (2005), a incidência, a distribuição geográfica e o comportamento de tipos específicos de câncer estão relacionados a múltiplos fatores, tais como sexo, idade, raça, predisposição genética e a exposição à carcinógenos ambientais.

Estatisticamente, em pesquisa realizada pela Organização Mundial de Saúde, o câncer é a terceira causa de óbitos no mundo com 12%, matando cerca de 6,0 milhões de pessoas por ano. Atualmente, é a segunda causa de mortes por doença no Brasil estimando-se em 2002, 337.535 casos novos e 122.600 óbitos (3).

O controle do câncer pode ser obtido por meio de detecção precoce e terapêutica cirúrgica e/ou quimioterapia; quando detectadas em sua fase inicial é potencialmente curável, daí a importância da vigilância a saúde para detecção precoce. É importante neste processo identificar as pessoas com risco aumentado de desenvolver

câncer como consequência da exposição a fatores ambientais bem como devido a fatores predisponentes individuais (por exemplo: albinismo e câncer de pele) (16).

Existem três tipos principais de tratamento para o câncer: cirurgia, radioterapia e quimioterapia (8).

A quimioterapia antineoplásica é uma modalidade de tratamento sistêmico que consiste na utilização de agentes químicos, isolados ou em combinação com o objetivo de tratar tumores malignos. Atualmente, a poliquimioterapia (Tabela 1 na página seguinte) é utilizada em substituição ao uso de um único agente antineoplásico, uma vez que possibilita uma melhor resposta do tumor ao tratamento e possui vantagens diversas, tais como: retardo da resistência tumoral e a possibilidade de administração de doses menores decorrentes do sinergismo que ocorre entre os diferentes fármacos, o que diminui a toxicidade celular (22).

O principal objetivo de qualquer esquema empregado no tratamento do câncer é procurar proporcionar uma quantidade de fármaco suficiente às células tumorais por um tempo suficiente para obter uma destruição razoável dessas células e evitar que o tratamento adquira toxicidade (16).

Nove fármacos citostáticos e duas combinações quimioterápicas foram incluídas pela International Agency for the Research on Cancer (IARC) no grupo 1 (ação carcinógena aos seres humanos); doze agentes são classificados como prováveis (Grupo 2A) e nove possíveis (grupo 2B) carcinógenos para humanos. Entre os doze agentes constituintes do grupo 1 encontra-se a ciclofosfamida. Além disso, muitos desses fármacos são teratogênicos e mutagênicos para humanos. Tendo como base o conhecimento científico atual, não se pode ajustar nenhum nível seguro de exposição a tais agentes (12).

**Tabela 1.** Neoplasias malignas responsivas a quimioterapia (6)

Diagnóstico	Tratamento atual de escolha	Outros fármacos valiosos
Carcinoma de mama	(1) Quimioterapia adjuvante ou tamoxifeno após cirurgia de mama primária (2) Poliquimioterapia ou manipulação hormonal para cada recidiva tardia	ciclofosfamida, doxorubicina, vincristina, metotrexato, fluorouracil, paclitaxel, mitoxantrona, prednisona <sup>1</sup> , megestrol, androgênios <sup>1</sup> , aminoglutetimida, trastuzumab
Carcinoma de colo uterino	Radioterapia mais cisplatina (localizado), cisplatina, carboplatina (metastático)	lomustina, ciclofosfamida, doxorubicina, metotrexato, mitomicina, bleomicina, vincristina, interferon, ácido 13-cis-retinóico
Carcinoma de pulmão	Cisplatina mais taxano	metotrexato, vincristina, vimblastina, doxorubicina, mitomicina C
Carcinoma de próstata	Agonista do GnRH mais antagonista dos androgênios	aminoglutetimida, doxorubicina, cisplatina, prednisona <sup>1</sup> , estramustina, fluorouracil, progestinas, suramina <sup>2</sup>
Carcinoma do estômago	fluorouracil mais cisplatina	hidroxiuréia, lomustina
Outros sarcomas	doxorubicina mais decarbazina	metotrexato, dactinomicina, ifosfamida mais mesna, <sup>1</sup> vincristina, vimblastina

<sup>1</sup> Fármaco de suporte, não-oncolítico;

<sup>2</sup> Fármaco em fase de investigação. Tratamento disponível através de pesquisadores qualificados e centros autorizados pelo *National Cancer Institute and Cooperative Oncology Groups*.

A quimioterapia antineoplásica tem como fator limitante a toxicidade dos fármacos em tecidos saudáveis, especialmente os que têm taxa de proliferação rápida, como a medula óssea, epitélio gastrointestinal, folículos pilosos da pele e epitélio germinativo. Por este motivo os efeitos adversos mais frequentes incluem mielossupressão, náusea, vômito, diarreia, alopecia e diminuição da fertilidade. As substâncias químicas antineoplásicas mais efetivas promovem experiências traumáticas para pacientes tratados e com vários sintomas de toxicidade direta. Tais agentes podem ainda promover o aparecimento de câncer secundário após cessado o tratamento quimioterápico, pois muitos são mutagênicos, carcinogênicos e teratogênicos em vários sistemas experimentais em humanos (10) (9) (17) (5).

A ciclofosfamida (CF) é um pró-fármaco e é utilizada no tratamento de diversos tipos de câncer, isolada ou em combinação com outros fármacos antineoplásicos. Este fármaco é ainda considerado como um modelo de indicador de exposição durante o trabalho com fármacos antineoplásicos (24).

A ifosfamida (IF) é um análogo estrutural da CF possuindo atividade alquilante após ativação enzimática. Apesar da ifosfamida apresentar carcinogenicidade em animais, não há evidências desta propriedade em humanos sendo assim classificada pela IARC como constituinte do grupo 3. Entretanto, devido a sua semelhança estrutural com a CF a IF pode ser considerada como um suspeito carcinógeno (27).

A doxorubicina (DOXO) é um antibiótico citotóxico do grupo das antraciclina, isolado a partir de culturas de *Sreptomycetes peucetius* e, presume-se que este fármaco se ligue a ácidos nucleicos por intercalação específica no

núcleo planar da antraciclina com a dupla hélice do DNA. De acordo com a IARC, os derivados de antraciclina são provavelmente carcinogênicos para humanos, sendo classificado no grupo 2 A isto é, suficientes evidências de carcinogenicidade em animais mas, insuficientes em humanos (28)

Os antimetabólitos disfarçados como construtores de DNA e outros componentes vitais da célula impedem que o DNA se replique adequadamente levando à morte celular. (20). A 5-fluoruracila (5-FU) pertencente a classe dos antimetabólitos, age bloqueando a síntese de timidina com ação específica na fase S do ciclo de divisão celular (2).

O metotrexato é um análogo estrutural do ácido fólico utilizado na terapia de tumores e leucemias. Recentemente está sendo utilizado como agente imunossupressor em transplantes de órgãos, tratamento de doenças auto-imunes e na terapia contra asma crônica (23). Atua inibindo a diidrofolato redutase, enzima necessária para a síntese de nucleotídeos e aminoácidos. Assim, reduz a síntese de DNA, inibe a mitose e a proliferação de células de divisão rápida, como são as da epiderme e da medula óssea (15).

É recomendado que alguns destes fármacos sejam monitorados, sob o ponto de vista toxicológico, especialmente aqueles que estão classificados como carcinogênicos. Por outro lado, outros fármacos também podem ser monitorizados dependendo da frequência e da dose em que são utilizados (29).

No âmbito ocupacional, durante a fase de preparação dos fármacos algumas operações são particularmente de risco: a abertura da ampola, a extração da agulha do frasco (pode formar aerossol), a expulsão de ar da serin-

ga, a transferência do fármaco de um frasco a outro ou a uma bolsa de infusão por meio da seringa ou agulha e o descarte incorreto do frasco parcialmente utilizado. Na fase de administração do fármaco, a exposição pode ser verificada durante a sua inserção no defluxor e/ou durante a expulsão do ar da seringa, por formação de aerossol ou por contato cutâneo direto (4).

Os fármacos antineoplásicos podem ser absorvidos pela inalação dos aerossóis formados e dispersos no ambiente de trabalho e através da via dérmica, que é considerada uma das principais vias de introdução, pelo contato prolongado com superfícies e/ou indumentárias contaminadas. Tratando-se de fármacos dotados de ação genotóxica, não é possível estabelecer uma relação dose-efeito, porém é notório que a exposição dos trabalhadores, mesmo em baixas doses, é considerada indevida (1).

A contaminação por CF foi detectada em ambientes hospitalares como, por exemplo, em farmácias e em setores que manipulam fármacos antineoplásicos. "Wipe sampling" é uma maneira comum de monitorar superfícies contaminadas. Um grande número de métodos, utilizando "wipe sampling", está sendo utilizado e a CF foi detectada como um contaminante de superfícies em vários locais de trabalho onde esta foi investigada. Os "pads" são também bastante utilizados para a monitorização de exposição. Estes são tecidos semelhantes à gaze colocados sobre e sob as vestimentas, para verificar a possível contaminação de zonas específicas do corpo do trabalhador (24).

A determinação dos fármacos antineoplásicos em diferentes matrizes requer métodos validados principalmente quanto ao limite de detecção e quantificação, já que a exposição, algumas vezes, é a baixas concentrações (26) (4). A maioria dos métodos para a determinação dos antineoplásicos ainda não está validada adequadamente (28). E, ainda, poucos fármacos têm sido monitorados apesar do protocolo de tratamento quimioterápico estar em constante evolução.

Larson, Khazaeli & Dillon (2002) sugerem que o método por cromatografia líquida de alta eficiência pode ser utilizado para a determinação de antineoplásicos em amostras *wipe test*. Paralelo a isto, Larson *et al.* (2003) discutem a existência de numerosos métodos para a detecção e a quantificação de fármacos antineoplásicos, todavia, sendo a maioria destes, capaz de analisar o fármaco isoladamente, sendo reduzido o número de métodos eficientes para a determinação simultânea destes agentes, característica esta importante analiticamente em vista da crescente utilização da terapia combinada para o tratamento do câncer.

Esses mesmos autores desenvolveram um método de determinação simultânea para cinco antineoplásicos (5-FU, CF, IF, DOXO e paclitaxel (taxol)), por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Com eluição gradiente, houve separação cromatográfica e os limites de detecção

(LD) obtidos foram para 5-FU, CF, IF e DOXO de aproximadamente 0,5 µg/mL e para o paclitaxel de 2 µg/mL (13).

Minoia *et al* (1998) determinaram por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (CLAE-MS/MS) e utilizando solução de acetato de etila para limpeza da superfície de trabalho, CF, em filtros de ar, e IF em "wipe sampling", "pads" e luvas. Obtiveram, respectivamente, LD de 2 ng/m<sup>3</sup> de filtros e 1 ng/dm<sup>2</sup> de "wipe sampling" e "pads" e 0,02 µg/ par de luva.

Schummaus *et al.* (2002) analisaram simultaneamente CF e IF em "wipe sampling" por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-MS/MS) utilizando 30 mL de acetato de etila para extração de filtros de ar e obtiveram recuperação de 60 a 100% para os analitos.

McDevitt, Lees & Mcdiarmid (1993) utilizaram solução de metanol: água (40: 60) na extração de CF de filtros de ar e "wipe sampling" e analisando as amostras por CLAE-UV, conseguindo LD de 0,06-03 µg/m<sup>3</sup> em amostras de ar e 0,003-0,025 µg/cm<sup>2</sup> em amostras de superfícies de 100-900 cm<sup>2</sup>.

Na determinação de MTX e 5-FU por CLAE-UV, Ses-sink *et al.* (1992) utilizaram solução de NaOH 0,03 M e obtiveram como LD para a 5-FU um valor de 0,1 ng/cm<sup>3</sup> de "wipe sampling" colocados no chão, 0,04 ng/cm<sup>2</sup> em "wipe sampling" dispostos sobre a superfície de trabalho, 0,3 µg em "wipe sampling" em pisos e embalagens dos fármacos e 0,7 µg/par de luva analisado. Para o MTX obteve-se limites de detecção maiores, de 1,0 ng/cm<sup>2</sup> de "wipe sampling" colocados no piso e 4,0 ng/cm<sup>2</sup> em "wipe sampling" dispostos sobre a superfície de trabalho, 3 µg em "wipe sampling" colocados nas embalagens dos fármacos e 6 µg/par de luva analisado.

Connor *et al.* (1999) também utilizaram solução de NaOH 0,03 M para limpeza de superfície e detecção de CF, IF, por cromatografia gasosa com espectrômetro de massa (CG-MS/MS) obtiveram limite de detecção de 0,1 ng/mL de extrato para os dois analitos e na determinação de 5-FU por CLAE-UV, obteve-se limite de detecção de 20 ng/mL de extrato.

A partir da revisão da literatura foi possível observar que é crescente a utilização de fármacos antineoplásicos na prática clínica e, em terapia combinada entre duas ou mais destas substâncias químicas. Em contrapartida, isto constitui importante risco químico tanto para os pacientes, pois podem levar a uma neoplasia secundária, quanto para o pessoal envolvido no preparo e na administração destas substâncias aos pacientes com câncer.

Assim, este trabalho tem como objetivo desenvolver, otimizar e validar método analítico para a determinação simultânea dos fármacos antineoplásicos doxorubicina, ciclofosfamida, 5-fluoruracila, ifosfamida e metotrexato em matrizes não biológicas (superfícies) visando sua aplicação na avaliação da exposição ocupacional e ambiental a tais agentes.

### 2.1. REAGENTES SOLVENTES E APARELHAGEM

Para o desenvolvimento do método utilizamos padrões dos fármacos, 5-fluoruracila e metotrexato (Aldrich®), doxorubicina (Adriplastina®), ciclofosfamida (Endoxan®) e ifosfamida (Holoxan®). Os padrões foram reconstituídos em metanol numa solução de trabalho na concentração 1g/L, a partir da qual foram preparadas novas concentrações da faixa analítica.

O equipamento analítico utilizado foi o cromatógrafo a líquido da Shimadzu® 10Avp, com detector de UV e DAD, forno com controle de temperatura e injeção automática com loop máximo de 50µL.

Na otimização da técnica cromatográfica testamos diversos reagentes, acetonitrila (ACN), metanol (MeOH) e acetato de etila (grau HPLC), n-hexano (grau resíduo), isopropanol, diclorometano, hidróxido de sódio (NaOH) 0,03M. Fases móveis com diversas contituições e proporções: Água: metanol(MeOH) (80:20), Tampão acetato de amônio 10mM: acetonitrila(ACN): MeOH (70:15:15), Água: MeOH: ACN (70:15:15); (55:15:30); (35:25:40); (35:15:50); (65:15:20); (70:10:20); (35:15:50) com pH variando de 3 a 6. Fluxos isocráticos de 0,5 e 0,7 mL/minuto, e diferentes gradientes de vazão da fase móvel, 0,4 mL/min até 10 min e após 0,9 mL/min, 0,4 mL/min até 13 min e após 1,0 mL/min, 0,5 mL/min até 7 min e após 0,9 mL/min. Colunas cromatográficas da Shim-pak® CLC-ODS(M) (250 mm x 4,6mm, 5µm) e SupelcosilTM LC-18 (150mm x 4,6mm,5µm). Temperatura do forno variando em 35°C, 40°C e a temperatura ambiente. Utilizamos para filtração da superfície de limpeza NaOH 0,03M filtro de solvente aquoso Millipore® GSWPO 1300 (0,22 µm x 13 mm).

### 2.2. MÉTODOS

Desenvolvemos a principio uma técnica de extração líquido-líquido para a extração dos analitos do líquido de limpeza das superfícies, a qual denominamos de matriz. Posteriormente buscando maior concentração dos analitos e diminuições dos custos desenvolvemos a injeção direta da matriz.

Testamos para a extração líquido-líquido dos analitos NaOH 0,03M (líquido de limpeza de superfícies utilizado por Sessink *et al.* (2003) (1992) e Connor *et al.* (1999)) ajustada em pH 3 a 9. Utilizando solventes extratores isolados, acetato de etila, n-Hexano e diclorometano, e misturas de solventes, tampão fosfato 10mM pH 4,0 + acetato de etila (1+5), tampão fosfato 10mM pH 7,0 + acetato de etila (1+5), tampão fosfato 10mM pH 8,0 +

acetato de etila (1+5), acetato de etila: isopropanol (10:1) e (7: 3), como líquido extrator. Após vários testes, a técnica de extração dos cinco analitos otimizada está descrita a seguir:

Em um tubo de extração (15 mL), colocou-se 1 mL de solução NaOH 0,03 M fortificada com CF, DOXO, IF, 5-FU e MTX, na concentração de 20µg/mL e ajustada a pH 4. Adicionou-se 2,5 mL da mistura extratora acetato de etila: isopropanol (7: 3). Em seguida, o tubo foi agitado no vórtex por 2,5 minutos havendo então separação das fases orgânica e inorgânica. A fase orgânica foi então transferida para um bquer afunilado enquanto a fase aquosa passou por mais um processo de extração adicionando-se a ela, outra alíquota de 2,5 mL de mistura extratora e agitação por 2,5 minutos. No final foi desprezada a fase aquosa. A fase orgânica resultante das extrações foi então levada a secura em N<sub>2</sub>. O resíduo foi ressuspenso em 200 µL de fase móvel e 50 µL foram injetados para análise no cromatógrafo.

Testou-se também a injeção direta da matriz (NaOH 0,003M como líquido de limpeza de superfícies) contaminada com os analitos. Foi avaliado ajuste de pH com HCl 0,1M para 4 e 8, filtração em filtro de solvente aquoso Millipore® GSWPO 1300 (0,22 µm x 13mm) e 50µL foram diretamente injetados no CLAE. Um outro líquido, todavia orgânico, constituído de acetonitrila: metanol (50: 50) foi testado, podendo ser utilizado para a limpeza das superfícies. Como esse já apresentava pH ácido, em torno de 5,5, foi fortificado diretamente com os analitos, seco sob nitrogênio, ressuspenso em fase móvel e injetou-se 50µL no cromatógrafo.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as condições testadas às consideradas satisfatórias para a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram: comprimento de onda de 195 nm; coluna Shim-Pak® CLC-ODS(M) C18 (250 mm x 4,6mm, 5µm); temperatura ambiente (21°C); fase móvel constituída de água pH 4,0: metanol: acetonitrila (70:13:17) e gradiente de vazão de 0,4 mL/min até 13 min e após 1mL/min obtendo tempo de corrida de 31 min para os cinco analitos.

Para comprovação de que estas foram condições otimizadas para os analitos, aplicou-se os parâmetros de conformidade do sistema (número de pratos teóricos, resolução, assimetria 10% e fator de capacidade) no cromatograma obtido com os cinco analitos nestas condições (Figura 1, Figura 2 e Tabela 2). A seletividade da técnica pode ser comprovada comparando a Figura 2b com a Figura 2a, que representa a injeção de fase móvel onde não se observa picos interferentes no tempo de retenção dos analitos.

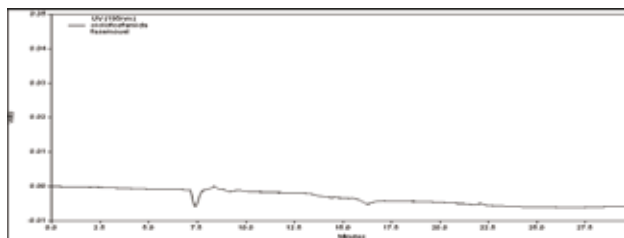


Figura 1. Cromatogramas obtidos a partir da injeção da fase móvel constituída de água pH 4,0: metanol: acetonitrila (70: 13: 17).

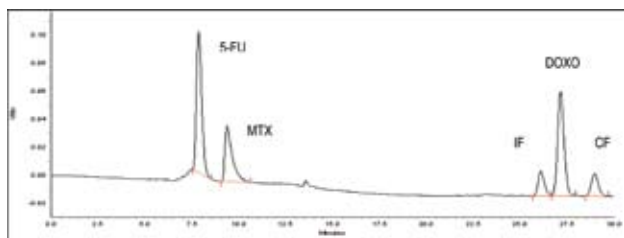


Figura 2. Cromatograma do sistema obtidos com os analitos 5-fluoruracila (5-FU) e metotrexato (MTX) na concentração de 5 µg/mL e ifosfamida (IF), doxorubicina (DOXO), ciclofosfamida (CF) na concentração de 100 µg/mL identificados por CLAE-UV nas condições otimizadas.

O parâmetro resolução foi calculado em relação aos picos à esquerda de cada analito, o que justifica o valor zero para os analitos 5-FU e IF, conforme pode ser observado na tabela 2.

Dentre as condições testadas com a extração líquido-líquido, a que extraiu os cinco analitos na concentração de 20 µg/mL e com resolução dos picos satisfatórios foi a mistura extratora acetato de etila: isopropanol (7: 3) com ajuste de pH da matriz para 4, obtendo-se as seguintes porcentagens de recuperação, em triplicata, para os analitos: CF 103%, DOXO 119%, IF 79%, 5-FU 88% e MTX 112%.

Resultados satisfatórios foram obtidos para a extração líquido-líquido, no entanto esta não foi validada devido ao desenvolvimento simultâneo da técnica de injeção direta que requer menor custo e de rápida execução.

Na técnica de injeção direta testou-se uma matriz aquosa, NaOH, e uma matriz orgânica, acetonitrila: metanol (50: 50), como líquido de limpeza de superfícies. Dentre elas foi obtido melhor resultado de separação dos analitos MTX e 5-FU com a matriz orgânica.

Estudos feitos por Larson *et al.* (2003) para a avaliação da contaminação de superfícies demonstrou que a melhor solução para extração dos analitos foi a mistura de 10% acetonitrila 25% de metanol e 65% de água milli-Q tamponada para pH 6,0. 4 mL desta mistura era adicionada a filtros de ar e extraídas por agitação por 30 minutos, resultando em porcentagem de extração dos analitos de 100% para CF, IF, 5-FU e paclitaxel e 60% para DOXO. McDevitt *et al.* 1999 utilizaram solução de metanol e água (40:60) para extrair seus analitos de filtros de ar. Minoia *et al* (1998) e Schumaus *et al* (2002) utilizam acetato de etila para extração dos analitos de “wipe sampling” e filtros de ar.

Para determinar o efeito das matrizes, aquosa ou orgânica, no desenvolvimento do método comparou-se estatisticamente a curva de calibração dos analitos extraídos de sua matriz (acetonitrila: metanol (50: 50)) com a curva dos analitos puros (secos e ressuspensos em fase móvel). As curvas foram construídas com as médias das áreas das sextuplicatas das 6 concentrações. O teste estatístico utilizado foi o teste “t” (com 95% de confiança) cujo objetivo é testar a igualdade entre duas médias, no caso, a média dos valores dos coeficientes angulares (a) e lineares (b). Conforme pode ser observado na Tabela 3, para os fármacos MTX e 5-FU, os valores de *p* foram menores que 0,05, demonstrando assim diferença estatisticamente significativa entre os coeficientes angulares das retas. Isso evidencia que a natureza da matriz, aquosa ou orgânica, interfere nos resultados obtidos. Em vista da maior possibilidade de concentração dos analitos e obtenção de melhores resultados, em termos de detecção dos analitos, quando comparado a outros métodos com utilização de matrizes aquosas, optou-se por utilizar a matriz orgânica para a determinação simultânea dos analitos e validação do método.

**Tabela 2.** Parâmetros de conformidade do sistema\* obtidos com os analitos 5-fluoruracila (5-FU) e metotrexato (MTX) na concentração de 5 µg/mL e ifosfamida (IF), doxorubicina (DOXO), ciclofosfamida (CF) na concentração de 100 µg/mL identificados por CLAE-UV nas condições otimizadas.

Analitos	Tempo retenção	Pratos teóricos (N)	Resolução (Rs)	Assimetria (T)	Fator de capacidade (K)
5-FU	7,8	3456	0,0	1,4	6,8
MTX	9,4	3388	2,6	2,1	8,4
IF	26,1	27719	0,0	1,1	25,1
DOXO	27,1	28566	1,6	1,1	26,9
CF	28,9	26807	2,7	1,2	27,9

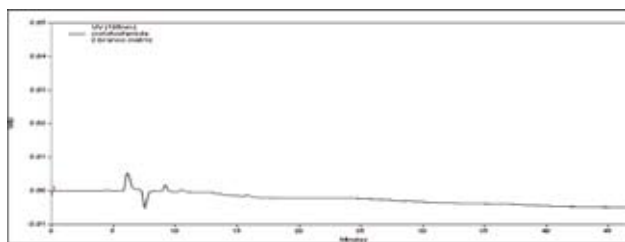
\*Valores de referência: N ≥ 2000; Rs ≥ 2; 0,5 ≤ T ≤ 2; k > 2 (21).

**Tabela 3.** Comparação entre os coeficientes angulares das retas obtidas para os fármacos antineoplásicos diluídos em diferentes matrizes.

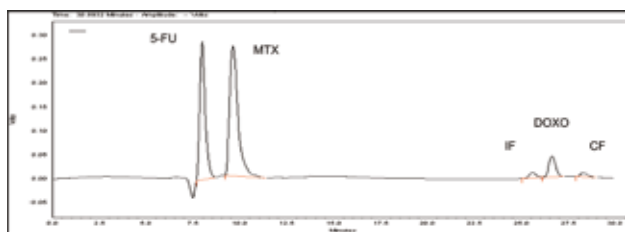
Fármaco	Coefficiente angular Matriz aquosa	Coefficiente angular Matriz orgânica	Valor de p*
metotrexato	838,1	521,66	0,0178
5- fluoruracila	532241	299408	0,0463
doxorubicina	50639	51983	0,8772
ciclofosfamida	10692	11559	0,3482
ifosfamida	10991	12821	0,0885

\* teste t, 95% de confiança

A seletividade da técnica com ausência picos interferentes nos tempos de retenção dos analitos e a resolução dos picos podem ser observado nos cromatogramas representados na Figura 3 e 4 respectivamente. Uma vez que esta foi a condição considerada satisfatória e mais rápida execução que a extração líquido-líquido optou-se por validar o método utilizando-a.



**Figura 3.** Cromatograma do branco de extração da injeção direta da Matriz ACN: MeOH(50:50).

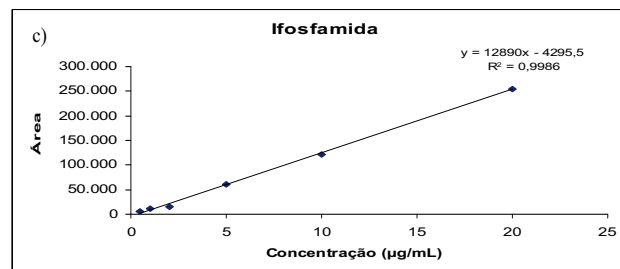
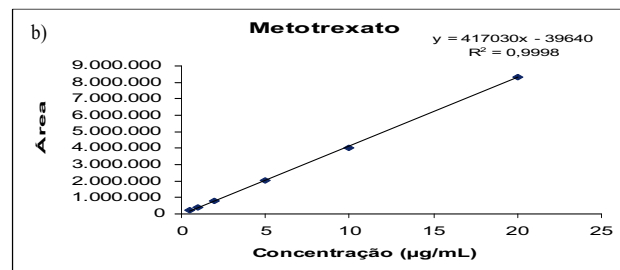
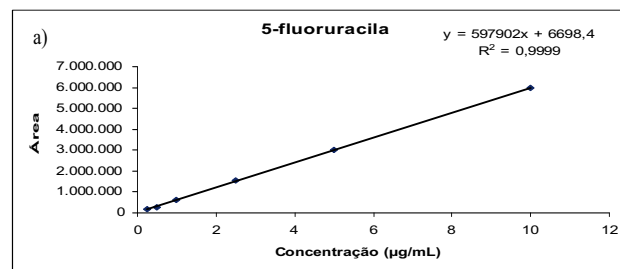


**Figura 4.** Cromatograma da injeção direta da matriz ACN: MeOH(50: 50) obtidos com os analitos 5-fluoruracila (5-FU) e metotrexato (MTX) na concentração de 10 µg/mL e ifosfamida (IF), doxorubicina (DOXO), ciclofosfamida (CF) na concentração de 20 µg/mL identificados por CLAE-UV nas condições otimizadas.

Para o estudo de linearidade foi realizada a contaminação da matriz acetonitrila: metanol (50: 50) com os analitos CF, DOXO, 5-FU, IF e MTX. Devido a maior resposta no detector UV os analitos 5-FU e MTX foram estudados no intervalo de 0,25 a 10 µg/mL e CF, DOXO e IF contemplando o intervalo de 0,5 a 20 µg/mL. Obtivemos para os cinco analitos valores satisfatórios de coeficiente de correlação linear que podem ser observados nas Figuras 5 e 6. Este parâmetro permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próxi-

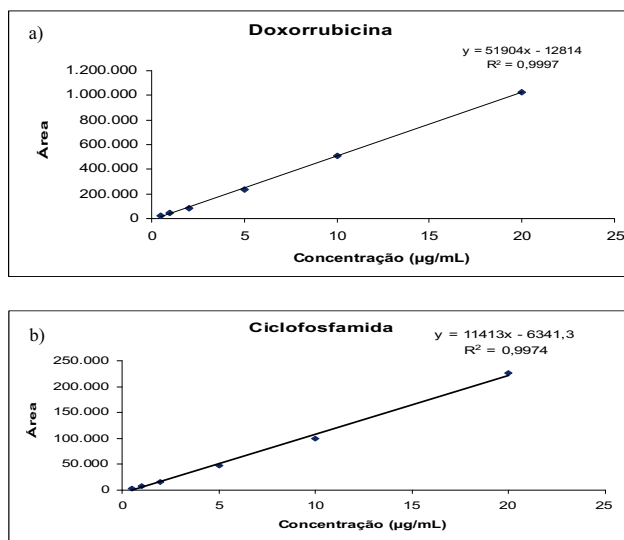
mo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados.

O limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) para os analitos estudados foram determinados a partir da curva analítica em que os valores do desvio padrão do branco (DP) e o coeficiente angular da curva (b) são inseridos na fórmula  $LD = (DP \times 3) / b$  calculando-se assim o limite de detecção, e o limite de quantificação, determinado



**Figura 5.** Gráficos de linearidade obtidos com a injeção direta da matriz acetonitrila:metanol (50:50) em sextuplicata para os analitos 5-FU (a) e MTX (b) contemplando o intervalo de 0,25 a 10µg/mL e IF (c), contemplando o intervalo de 0,5 a 20µg/mL.





**Figura 6.** Gráficos de linearidade obtidos com a injeção direta da matriz acetonitrila:metanol (50:50) em sextuplicata para os analitos DOXO (a) e CF (b) contemplando o intervalo de 0,5 a 20µg/mL.

seguindo o mesmo procedimento adotado para o limite de detecção. Sendo que o LQ corresponde a dez vezes o desvio padrão do branco ( $LQ = (DP \times 10) / b$ ). Os resultados obtidos podem ser observados na Tabela 3.

Larson *et al.* (2003) desenvolveu um método de determinação simultânea para cinco antineoplásico (5-FU, CF, IF, DOXO e paclitaxel (taxol)), por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e os limites de detecção obtidos pelos autores foram para 5-FU, CF, IF e DOXO,

de aproximadamente 0,5 µg/mL e para o paclitaxel de 2 µg/mL, com um loop de 500 µL, injetava-se no cromatógrafo uma massa de 0,25 µg para 5-FU, CF, IF e DOXO e 1 µg para o paclitaxel. O método desenvolvido apresentou menores limites de detecção e quantificação, contemplando o intervalo de 0,25 a 10µg/mL para 5-FU e MTX e 0,5 a 20µg/mL para CF, DOXO e IF e com loop de 50 µL foram injetados no cromatógrafo massas dez e vinte vezes menores para 5-FU, MTX e CF, IF e DOXO respectivamente. É de grande importância que métodos de determinação de contaminações os LD e LQ sejam os menores possíveis.

Para determinar a precisão intra-corrida (repetibilidade) foram analisadas a injeção direta da matriz (acetonitrila: metanol) contaminada com os analitos conforme estudo da linearidade. Sendo analisadas as concentrações 1, 5 e 20 µg/mL para CF, IF, e DOXO e 0,5, 2,5 e 10 µg/mL para 5-FU e MTX. Cada concentração foi analisada em sextuplicata. Forneceram coeficientes de variação (CV) inferiores ou igual a 15% para as concentrações baixa, média e alta para quase todos os cinco analitos; e para o limite de quantificação, os CVs foram menores que 20%, como demonstrado pela Tabela 4.

A precisão intercorrida (precisão intermediária) que indica o efeito das variações dentro do laboratório devido a eventos como diferentes dias ou diferentes analistas ou diferentes equipamentos ou uma combinação destes fatores, foi conforme a repetibilidade, em triplicata, em dias diferentes (no decorrer de dezessete dias). Forneceram coeficientes de variação (CV) inferiores ou

**Tabela 3.** Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) dos analitos ciclofosfamida (CF), doxorubicina (DOXO), 5-fluoruracila (5-FU), Ifosfamida (IF) e metotrexato (MTX) obtidos através da a curva analítica da injeção direta da matriz ACN: MeOH (50:50).

Analitos	CF	DOXO	5-FU	IF	MTX
LD (µg/mL)	0,03	0,07	0,04	0,3	0,4
LQ (µg/mL)	0,1	0,2	0,1	0,9	0,1

**Tabela 4.** Tabela dos coeficientes de variação obtidos através da sextuplicata da injeção direta da matriz acetonitrila:metanol (50:50) para os analitos 5-FU e MTX contemplando o intervalo de 0,25 a 10µg/mL e CF, DOXO e IF contemplando o intervalo de 0,5 a 20µg/mL.

Coeficiente de variação (%CV)						
Concentração (µg/mL)	Analitos			Concentração (µg/mL)	Analitos	
	CF	DOXO	IF		5-FU	MTX
1	13,3	15,4	14,3	0,5	8,6	8,8
5	7,1	4,4	14,6	2,5	2,1	4,3
20	4,3	2,0	5,7	10	3,1	3,2

igual a 15% para as concentrações baixa, média e alta para os cinco analitos; e para o limite de quantificação, os CVs foram menores que 20%, como demonstrado pela Tabela 5.

Foi escolhido o método da recuperação para determinação da exatidão do método devido a dificuldade em se obter materiais de referência certificados. Este método consiste na fortificação de uma quantidade conhecida do analitos em estudo na matriz pré-determinada. No nosso caso, a matriz, constituída de acetonitrila: metanol (50:50). Analisou-se a matriz fortificada com concentrações 1, 5 e 20 µg/mL para CF, IF e DOXO e 0,5, 2,5 e 10 µg/mL para 5-FU e MTX (concentrações alta, média e baixa). Foram obtidas assim, a partir da equação da reta das curvas analíticas, as concentrações experimentais que foram então comparadas as concentrações teóricas obtendo-se assim a percentagem de exatidão para cada concentração. Obtendo-se valores entre 85 e 115% para as concentrações altas e médias para todos os analitos, e para as concentrações baixas apenas os analitos ciclofosfamida, ifosfamida apresentaram valores maiores que 120% (Tabela 6).

Os valores de LD, LQ, precisão e exatidão foram considerados satisfatórios tendo em vista o desenvolvimento de um método de determinação simultânea e a maioria dos métodos similares não estarem adequadamente validados.

Foi realizados testes de estabilidade com a técnica de injeção direta da matriz orgânica acetonitrila: metanol (50:50) para os cinco analitos, no auto-injetor, freezer e geladeira.

O teste de estabilidade no auto-injetor foi realizado injetando-se novamente, ao fim de oito horas de trabalho, as primeiras amostras, na concentração de 2 µg/mL, que foram injetadas no início das análises. Este teste foi feito já que todas as amostras são preparadas inicialmente e colocadas no auto-injetor. O teste visa então verificar se as últimas amostras a serem analisadas em um somatório de corridas analíticas de duração média total de dez horas não sofreriam influência em sua constituição devido às condições de armazenagem e temperatura.

Os testes de estabilidade no freezer e na geladeira analisam a estabilidade a longo prazo, ou seja, avalia se as amostras prontas para serem injetadas no CLAE (já ressuspensas em fase móvel) sofrem alterações de suas propriedades quando armazenadas em freezer e em geladeira durante dezessete dias. Após uma corrida analítica são guardados "vials" nas concentrações 5 µg/mL (em triplicata) em freezer e em geladeira. Estes mesmos "vials", após dezessete dias, foram então injetados novamente e a área obtida é comparada a área de dezessete dias atrás. Estas amostras foram armazenadas bem fechadas e com proteção a luz.

**Tabela 5.** Tabela dos coeficientes de variação obtidos com as sextuplicatas da injeção direta da matriz acetonitrila:metanol (50:50) para os analitos 5-FU e MTX contemplando o intervalo de 0,25 a 10µg/mL e CF, DOXO e IF contemplando o intervalo de 0,5 a 20µg/mL.

Coeficiente de variação (%CV)						
Concentração (µg/mL)	Analitos			Concentração (µg/mL)	Analitos	
	CF	DOXO	IF		5-FU	MTX
1	15,3	6,1	9,6	0,5	7,9	7,6
5	3,4	1,8	4,1	2,5	2,1	1,5
20	1,8	1,7	0,8	10	1,0	1,9

**Tabela 6.** Valores de exatidão obtidos através da sextuplicata da injeção direta da matriz acetonitrila:metanol (50:50) para os analitos ciclofosfamida (CF), doxorubicina (DOXO), 5-fluoruracila (5-FU), ifosfamida (IF) e metotrexato (MTX).

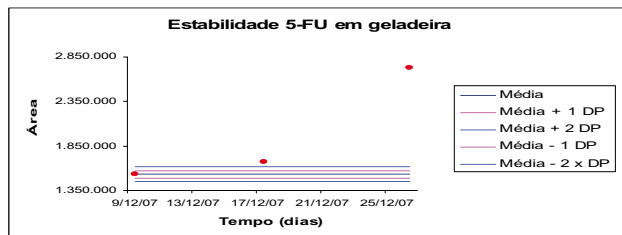
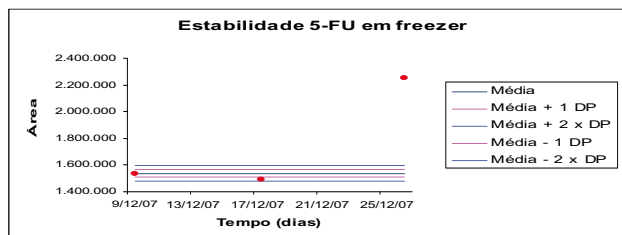
% Exatidão						
Concentração (µg/mL)	Analitos			Concentração (µg/mL)	Analitos	
	CF	DOXO	IF		5-FU	MTX
1	122,1	110,4	126,3	0,5	118,5	97,2
5	95,1	96,8	101,5	2,5	97,5	100,6
20	101,8	100,2	100,7	10	100,3	100,3

Com relação a estabilidade o metotrexato e a ciclofosfamida não se mostraram estáveis após oito dias guardados em freezer e após oito dias guardados em geladeira a 5-fluoruracila e doxorubicina não demonstra-

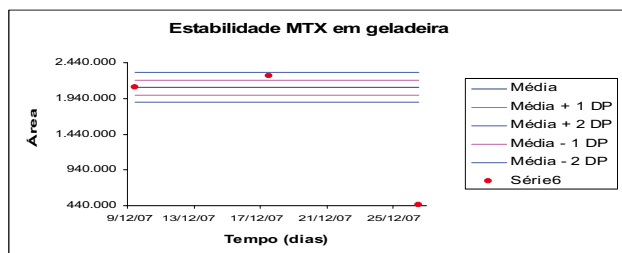
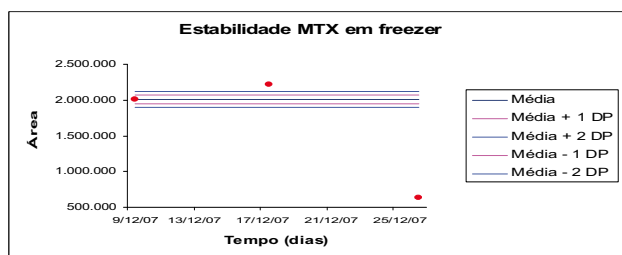
ram estáveis. Apenas a ifosfamida demonstrou-se estável por oito horas em contato com a fase móvel e mantida a temperatura ambiente, conforme observado na Tabela 7 e Figuras 7 a 15.

**Tabela 7.** Dados de estabilidade obtidos com os analitos na concentração de 5µg/mL em freezer, geladeira e de 2µg/mL no auto-injetor.

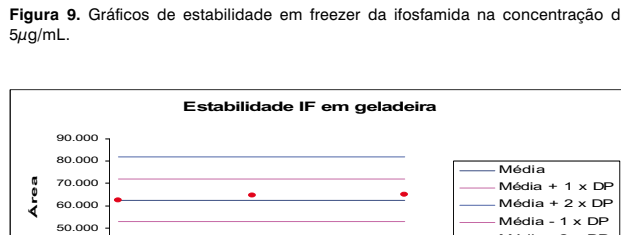
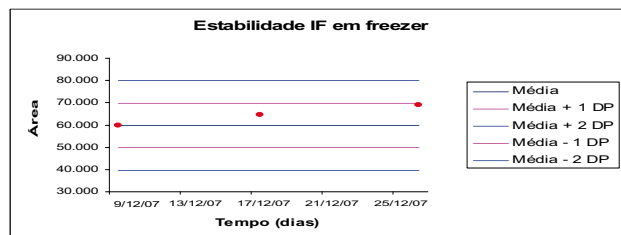
ANALITO	FREEZER	GELAIDEIRA	OUTO-INJETOR
5-FU	8 dias	< 8 dias	< 8 horas
MTX	< 8 dias	8 dias	< 8 horas
IF	17 dias	17 dias	estável
DOXO	17 dias	< 8 dias	< 8 horas
CF	< 8 dias	8 dias	< 8 horas



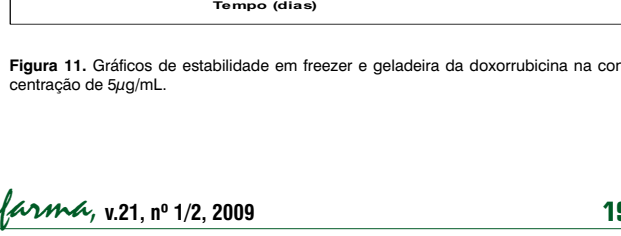
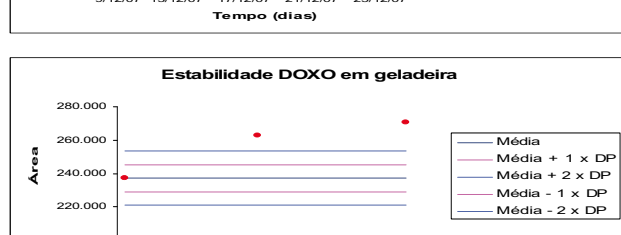
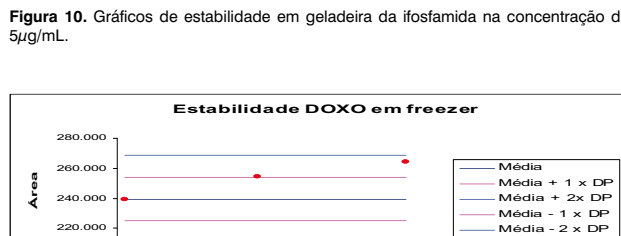
**Figura 7.** Gráficos de estabilidade em freezer e geladeira da 5-fluoruracila na concentração de 5µg/mL.



**Figura 8.** Gráficos de estabilidade em freezer e geladeira do metotrexato na concentração de 5µg/mL.



**Figura 9.** Gráficos de estabilidade em freezer da ifosfamida na concentração de 5µg/mL.



**Figura 10.** Gráficos de estabilidade em geladeira da ifosfamida na concentração de 5µg/mL.

**Figura 11.** Gráficos de estabilidade em freezer e geladeira da doxorubicina na concentração de 5µg/mL.

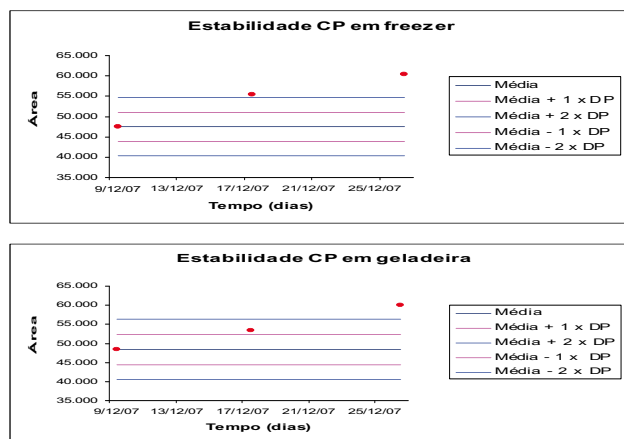


Figura 12. Gráficos de estabilidade em freezer e geladeira da ciclofosfamida na concentração de 5 µg/mL.

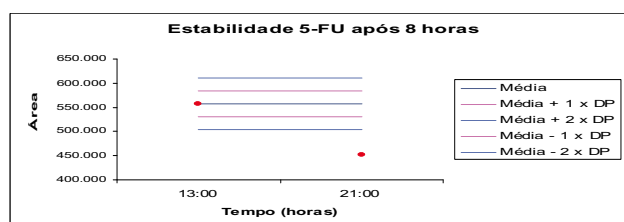


Figura 13. Gráfico de estabilidade no auto-injetor da 5-fluoruracila na concentração de 2 µg/mL, após oito horas de trabalho.

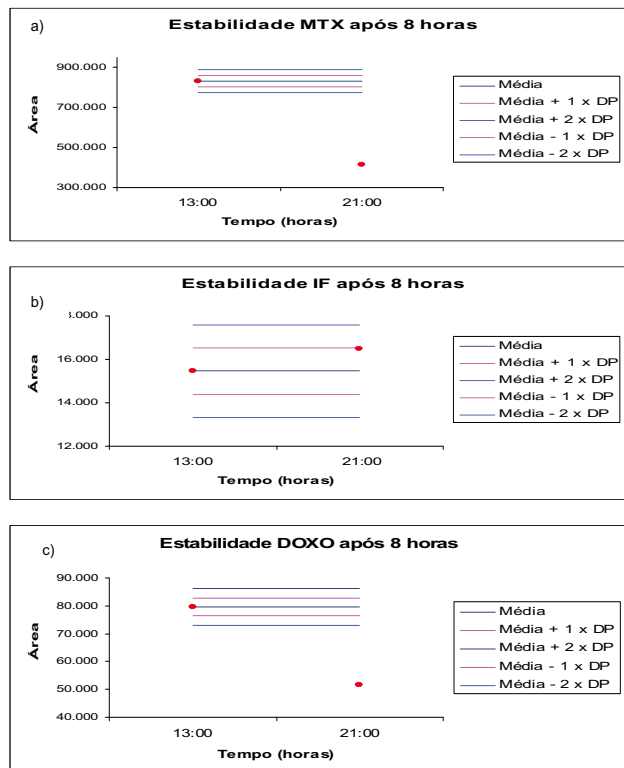


Figura 14. Gráfico de estabilidade no auto-injetor dos analitos metotrexato (a), ifosfamida (b), doxorubicina (c) na concentração de 2 µg/mL, após oito horas de trabalho.

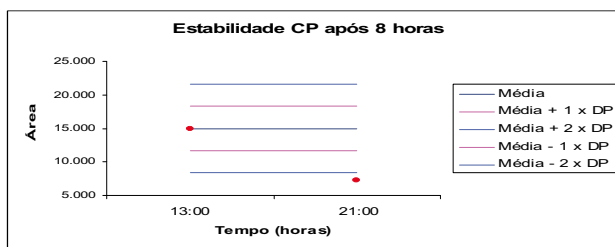


Figura 15. Gráfico de estabilidade no auto-injetor da ciclofosfamida na concentração de 2 µg/mL, após oito horas de trabalho.

Com os testes de estabilidade pode-se concluir que na utilização do método desenvolvido as amostras devem ser analisadas até oito horas após contato com a matriz orgânica acetonitrila: metanol (50;50), se mantidas a temperatura ambiente, ou quando conservadas, esta deve ser preferencialmente em freezer, onde obtivemos maior número de analitos conservados por maior tempo.

## CONCLUSÕES

As condições otimizadas para o método analítico utilizando a cromatografia líquida (CLAE) foram: detecção a 195 nm (UV), coluna Shimpak® CLC-ODS(M) C18 (25 cm x 4,6 mm, 5 µm), fase móvel constituída de água pH 4,0: acetonitrila: metanol (70:17:13, v/v), vazão de 0,4 mL/min até 13 minutos e 1 mL/min até o fim da corrida cromatográfica.

Foram obtidos resultados satisfatórios para a determinação simultânea dos fármacos estudados, com a extração líquido-líquido utilizando-se com acetato de etila: isopropanol (7:3), quando se utilizou matriz aquosa (NaOH) ajustada a pH 4,0, para a limpeza das superfícies de trabalho, como bancada.

Quando foi utilizada a matriz orgânica, acetonitrila: metanol (50:50), para a limpeza de superfícies de trabalho, e a injeção direta dessa, sem prévia extração, os resultados também foram satisfatórios, em relação aos parâmetros estudados, podendo esse ser utilizado para aplicações em amostras reais.

O método demonstrou-se linear para a 5-FU e MTX no intervalo de 0,25 a 10 µg/mL e para DOXO, CF e IF no intervalo de 0,5 a 20 µg/mL, com coeficientes de correlação linear superiores a 0,99. A exatidão variou de 85 a 120% para quase todos os analitos. A repetibilidade e a precisão intermediária apresentaram coeficientes de variação inferiores a 15% para a maioria dos analitos.

O método validado é rápido, de fácil execução e baixo custo e pode ser empregado na avaliação da exposição ocupacional e ambiental dos fármacos antineoplásicos, metotrexato, 5-fluoruracila, ifosfamida, doxorubicina e ciclofosfamida.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL-MG pela estrutura concedida para a realização deste trabalho.

À Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Isarita Martins, orientadora, pela oportunidade, dedicação, conhecimentos transmitidos e confiança depositada na realização deste trabalho.

Aos professores, alunos e técnica do laboratório de análises toxicológicas da UNIFAL-MG, pela troca de conhecimento, ensinamentos, companheirismo e compreensão durante a elaboração deste trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALESSIO, L. *et al.* Prevenzione dei rischi da esposizione professionale a chemioterapici antiblastici. Documento di consenso. **Med. Lav., Fidenza**, v.87, n.3, 1996. p.194-200.
- ALMEIDA, J.R.C de – **Farmacêuticos em Oncologia – Uma Nova Realidade**. São Paulo: Atheneu, 2004. p.358.
- ALMEIDA, V. L. *et al.* Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: uma introdução. **Química Nova**, Belo Horizonte, v. 28, n. 1, 2005. p.118-129.
- APOSTOLI, P.; FACCO, P.; ALESSIO, L. **Convenzione ISPEL pelo studio**: Messa a punto di una lista di controllo per valutare l'esposizione degli adetti alla preparazione dei chemioterapici antiblastici. Brescia: Università degli Studi di Brescia, 2001. p.48. [Folheto]
- BERTRAM, J.S. The molecular biology of cancer. **Mol. Aspects Med.**, Oxford, v.21, 2001. p.167-223.
- CHU, E.; SARTORELLI, A. C. Fármacos Antineoplásicos. In: KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica & Clínica Quimioterapia do Câncer**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, c. 55, 2005. p. 751-777.
- CONNOR, T. H. *et al.* Surface contamination with antineoplastic agents in six cancer treatment centers in Canada and the United States. **Am. J. Health.**, Syst Pharm, v.56, n.15, 1999. p.1427.
- FOYE, W. O. *et al.* **Principles of Medicinal Chemistry**. Williams & Wilkins: Baltimore, 1996. p. 822-845.
- FERGUSON, L.R.; PEARSON, A.E. The clinical use of mutagenic anticancer drugs. **Mutat. Res.**, v.355, p.1-12, 1996.
- FORNI, A. Rischi chimici genotossici per il personale ospedaliero. In: CONGRESSO NAZIONALE DI MEDICINA PREVENTIVA DEI LAVORATORI DELLA SANITÀ, **Atti.**, Brescia, v.2, 1994. p.178-192.
- [INCa] Instituto Nacional do Câncer. **O que é câncer?** Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/cancer>>. Acesso em: 15 de set. 2008.
- International Agency for Research on Cancer, 2004. **Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans: Pharmaceutical Drugs**. Disponível em: <<http://www.iarc.fr>>. Acesso em: 11 abr. 2007.
- LARSON, R. R.; KHAZAELI, M. B.; DILLON, H. K. Development of an HPLC Method for Simultaneous Analysis of Five Antineoplastic Agents. **Appl. Occup. Envir. Hyg.**, Alabama, v. 18, n. 2, 2003. p.109-119.
- LARSON, R.R.; KHAZAELI, M.B.; DILON, H.K. Monitoring method for surface contamination caused by selected antineoplastic agents. **Am. J. Health-Syst. Pharm.**, Bethesda, v.59, n.3, 2002. p.270-277.
- BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006. p. 1204.
- LIMA, D. R. **Manual de Farmacologia Clínica, Terapêutica e Toxicologia**. São Paulo: Medsi, v.1, 2003. p.516-550.
- MALUF, S.W.; ERDTMANN, B. Follow-up study of the genetic damage in lymphocytes of pharmacists and nurses handling antineoplastic drug evaluated by cytokinesis-block micronuclei analysis and single cell gel electrophoresis assay. **Mutat. Res.**, Amsterdam, v.471, 2000. p.21-27.
- MCDEVITT, J. J.; LEES, P. S. J.; MCDIARMID, M. A. Exposure of hospital pharmacists and nurses to antineoplastic agents. **J. Occup. Med.**, v.35, 1993. p.57-60.
- MINOIA, C. *et al.* Application of HPLC/Tandem MS in Environmental and Biological Monitoring of Health Care Personnel Occupationally Exposed to Cyclophosphamide and Ifosfamide. **Rapid Commun. Mass Spectrom.** v.12, 1998. p.1485-1493.
- PRADO, F.C.; RAMOS, J. A.; VALLE, J.R. **Atualização terapêutica 2003**. São Paulo: Artes Médicas, 2003.
- RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, Curitiba, v. 27, n. 5, 2004. p.771-780.
- ROCHA, F. R. L. Perigos potenciais a que estão expostos os trabalhadores de enfermagem na manipulação de quimioterápicos antineoplásicos: conhecê-los para preveni-los. Ribeirão Preto, 2002. 93p. **Dissertação de Mestrado – Faculdade de Enfermagem de Ribeirão Preto** – Universidade de São Paulo.
- RUBINO, F.M. Separation methods for metotrexate, its structural analogues and metabolites. **J. Chromatogr. B**, v.764, 2001. p.217-254.
- SCHMAUS, G.; SCHIERL, R.; FUNCK, S. Monitoring surface contamination by antineoplastic drug using gas chromatography-mass spectrometry and volumetry. **Am L. Health-Syst.Pharm.**, Bethesda, v.59, n.10, 2002. p.956-961.

- SESSINK, P. J. M. *et al.* Occupational exposure to antineoplastic agents at several departments in a hospital. **Int. Arch. Occup. Envir. Health.** v.64, n.12, 1992. p.105.
- SESSINK, P.J.M.; BOS, R.P. Drug hazardous to healthcare workers: evaluation of methods for monitoring occupational exposure to cytostatic drugs. **Drug Saf.**, Auckland, v.20, n.4, 1999. p.347-359.
- TEW, K.D.; COLVIN, M., CHABNER, B.A. in: Chabner, Longo (Eds.), *Cancer Chemother, Biother*, Lippincot-Raven: Philadelphia, 2.ed., 1996. p.297.
- TURCI, R. *et al.* Biological and environmental monitoring of hospital personnel exposed to antineoplastic agents: a review of analytical methods. **J. Chromatogr. B**, v.789, 2003. p.169-209.
- TURCI, R. *et al.* Validation protocol and analytical quality in biological monitoring of occupational exposure to antineoplastic drugs. **Toxicol. Letters**, v.162, n.2-3, 2006. p.256-262.

# RELAÇÃO ENTRE EDUCAÇÃO, FARMACÊUTICO E SAÚDE: A DIMENSÃO EDUCATIVA DA PRÁTICA FARMACÊUTICA.

AMOUNI MOHMOUD MOURAD<sup>1</sup>  
CRISTINA MAGINA DE OLIVEIRA CEZAR<sup>2</sup>  
RAQUEL RIZZI GRECCHI<sup>3</sup>

1. Farmacêutica, Especialista em Fundamentos da Educação, Mestre em Análises Clínicas, Docente dos cursos de Farmácia da Universidade Mackenzie e da Universidade Camilo Castelo Branco – São Paulo, Assessora Técnica do Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo.
2. Farmacêutica, Especialista em Magistério do Ensino Superior, pela Pontifícia Universidade Católica de São Paulo, atuou como Consultora do Núcleo de Educação Permanente do Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo.
3. Farmacêutica, Especialista em Análises Clínicas, Mestre em Educação, Docente dos cursos de Farmácia da Universidade Metodista de Piracicaba e da Faculdade Campo Limpo Paulista – São Paulo, Presidente do Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo.

Autor responsável. C.M.O. Cezar.  
E-mail: cristina.magina@hotmail.com.

## INTRODUÇÃO

[...] A Educação existe sob tantas formas e é praticada em situações tão diferentes, que algumas vezes parece ser invisível, a não ser nos lugares onde pendura alguma placa na porta com o seu nome. (BRANDÃO, 1981, p. 16).

A realização deste estudo decorreu de observações feitas durante os processos de planejamento e de participação nas Campanhas de Educação em Saúde e nas discussões sobre a reorientação da Farmácia, como estabelecimento de Saúde, e do Farmacêutico, enquanto profissional da Saúde, quando atuamos frente às ações do Núcleo de Educação Permanente (NEP) do Conselho Regional de Farmácia do Estado de São Paulo (CRF-SP).

Em levantamento feito sobre a história da prática e do ensino farmacêutico, para posterior publicação pelo CRF-SP, foi possível observar o movimento e a trajetória percorrida pela profissão, bem como os novos caminhos que lhe estão sendo apontados.

A reorientação do estabelecimento farmacêutico para estabelecimento de saúde, considerando a Farmácia como um local não apenas de dispensação de medicamentos, mas também de informações e cuidados com a saúde, traz consigo a necessidade de reflexão quanto aos referenciais da prática farmacêutica, a finalidade deste trabalho,

a natureza e as dimensões presentes nas atividades que a compõem (neste trabalho será considerada a dimensão educativa), sua inter-relação com outros profissionais e principalmente com o usuário do medicamento (foco de discussão deste trabalho).

As discussões sobre o papel do Farmacêutico no sistema de atenção à saúde ganharam maior visibilidade durante a realização da Conferência Mundial de Atenção Primária à Saúde, que aconteceu em Alma Ata, em 1978, com as reflexões sobre o acesso aos medicamentos; e nos debates ocorridos durante a realização da Conferência Mundial sobre o Uso Racional de Medicamentos, que aconteceu em Nairobi, em 1985. Em decorrência, a Organização Mundial de Saúde (OMS) e autoridades sanitárias de todo o mundo identificaram a atuação do Farmacêutico como uma das mais importantes para atingir os objetivos traçados para a resolutividade das ações de saúde, reconhecendo-o como um dispensador de atenção à saúde, que pode participar ativamente na prevenção de enfermidades, na promoção da saúde e do uso racional de medicamentos, em uma equipe multiprofissional.

Estes fatos impulsionaram a publicação em 1997, pela OMS, do documento titulado de *"The role of the pharmacist in the health care system"* ("O papel do farmacêutico no sistema de atenção à saúde"), que destaca sete qualidades necessárias ao farmacêutico. O chamado "Farmacêutico sete estrelas" deve ser um profissional:

- ✓ Prestador de serviços farmacêuticos em uma equipe de saúde; Capaz de tomar decisões; Comunicador; Líder; Gerente; Atualizado permanentemente; Educador.

Desde então, os órgãos envolvidos na supervisão e/ou fiscalização deste profissional/profissão (Conselho Federal de Farmácia, Conselhos Regionais de Farmácia, Ministério da Saúde, Organização Pan-Americana da Saúde, Organização Mundial da Saúde, Federação Nacional e Internacional dos Farmacêuticos, Ministério da Educação) realizam conferências, seminários, oficinas, com o objetivo de dialogar e propor consensos para uma redefinição e adequação da prática farmacêutica às necessidades nacionais, atendendo às suas peculiaridades.

No Brasil, este processo de discussão buscou identificar os principais aspectos que caracterizam a formação e a atuação do farmacêutico, considerando a realidade em que ele vem sendo formado. Podemos destacar três das características identificadas pelo relatório da oficina de trabalho "Atenção Farmacêutica no Brasil: trilhando caminhos", que aconteceu em Fortaleza, em 2001. São elas:

"Crise de identidade profissional do farmacêutico, e em consequência, falta de reconhecimento social e pouca inserção na equipe multiprofissional de saúde, não representando um referencial como profissional de saúde na farmácia"...

"Deficiências na formação, excessivamente tecnicista, com incipiente formação na área clínica. Descompasso entre a formação dos farmacêuticos e as demandas dos serviços de atenção à saúde, tanto públicos como privados e nos diferentes níveis"...

"Prática profissional desconectada das políticas de saúde e de medicamentos, com priorização das atividades administrativas **em detrimento da educação em saúde** e da orientação sobre o uso de medicamentos".

A aprovação e a implementação da Política Nacional de Medicamentos em 1998, a proposta de Consenso Brasileiro de Atenção Farmacêutica em 2002, a publicação da Resolução CNE/CES nº 02 em 19 de fevereiro de 2002, pelo Conselho Nacional de Educação/Câmara de Educação Superior (que instituiu as Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação em Farmácia) e a publicação e a aprovação da Política Nacional de Assistência Farmacêutica em 2004, são importantes marcos para a consolidação da prática farmacêutica voltada para a promoção da saúde,

diretamente relacionada com o usuário de medicamentos e serviços de saúde.

O Farmacêutico, a partir desta reorientação, passa a ser considerado um profissional da saúde, ampliando sua atuação, que antes era direcionada quase que exclusivamente ao medicamento, e hoje passa a ser também para o usuário deste medicamento.

Diante deste novo enfoque da profissão, tendo os caminhos, conceitos e papéis já elucidados, nos cabe agora explorar e refletir sobre as dimensões presentes na prática farmacêutica. Busco aqui explorar a dimensão educativa, que se apresenta especialmente nas atividades de promoção da saúde, prevenção de enfermidades e promoção do uso racional de medicamentos. Espero assim contribuir para uma melhor compreensão e aplicação desta prática.

## MATERIAL E MÉTODOS

---

O material que constitui a base dessa reflexão foi reunido e organizado através de levantamento de documentos e registros históricos, em processo de pesquisa qualitativa, de cunho exploratório, entre autores e estudiosos da profissão farmacêutica e teóricos da educação, por meio de fontes bibliográficas, impressas e eletrônicas.

O critério de escolha destes documentos e fontes bibliográficas exigia que eles evidenciassem a reorientação da prática farmacêutica, bem como a dimensão educativa presente nesta prática.

## DISCUSSÃO

---

O Farmacêutico é um profissional da saúde, cumprindo-lhe executar todas as atividades inerentes ao âmbito profissional farmacêutico, de modo a contribuir para a salvaguarda da saúde pública e, ainda, **todas as ações de educação** dirigidas à comunidade na promoção da saúde. (CFF, Código de ética da profissão farmacêutica, 2004).

Conforme exposto acima, o papel do Farmacêutico na sociedade brasileira tem sido tema recorrente de discussão da categoria, acompanhado necessariamente da reflexão sobre o processo de formação deste profissional.

A história do ensino farmacêutico no Brasil pode ser contada com base nas diversas propostas de alteração e



uniformização curriculares. Mais expressivamente, os currículos mínimos de 1962 (Parecer 268 do CFE) e de 1969 (Parecer 287 do CFE), que regularam a graduação em Farmácia até 2002.

No século XIX, o Farmacêutico, antes chamado de Boticário, era conhecido como sendo o Mestre na arte de desenvolver e manipular os medicamentos. Ele também auxiliava e amparava nos momentos de dor física, ouvia os sintomas, os problemas e as queixas dos que o procuravam, sendo a pessoa que prestava os primeiros socorros, que providenciava os primeiros cuidados.

O termo “fármaco” do grego *phármakon* (latim *medicamentum*) significa na sua origem o que faz bem (remedia) e o que faz mal (droga). Utilizado fora da medida, em excesso ou em menor quantidade, pode agravar o mal. Neste sentido o remédio, se utilizado corretamente, torna-se um instrumento capaz de estabelecer o equilíbrio do corpo, resgatando desta forma a origem etiológica da palavra cura, no sentido de cuidado, atenção, zelo.

Em 1889, após a proclamação da República, houve o incentivo para a criação da Indústria Farmacêutica Nacional, e conseqüentemente a Farmácia e o Farmacêutico afastaram-se das chamadas Boticas, iniciando-se aqui a interação da Farmácia com a pesquisa e a indústria química. Com isso, a Farmácia não se limitou ao atendimento nos balcões, mas associou-se também à pesquisa de novos medicamentos.

No início, os Cursos de Farmácia no Brasil tinham sua atenção voltada para a formação do farmacêutico sem qualquer adjetivo, habilitando-o para o exercício das Ciências Farmacêuticas em sua plenitude.

Por volta de 1930, teve início a reestruturação do ensino farmacêutico, com adaptações curriculares para o desempenho das suas funções em laboratórios de produção de medicamentos e em laboratórios de análises clínicas, o que resultou, em 1962, que o Conselho Federal de Educação (CFE) estabelecesse o primeiro currículo mínimo de Farmácia no Brasil. Esse currículo criou a habilitação para o profissional nas modalidades Indústria e Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas, fazendo com que a atividade farmacêutica estivesse mais voltada para as práticas técnicas, no que diz respeito a desenvolvimento, produção, controle de qualidade, análises clínicas, do que para a atenção aos usuários do medicamento e destes serviços.

Percorrendo a história da prática e do ensino farmacêutico no Brasil, podemos perceber que, nos primeiros 170 anos (1832 – 2002), as propostas de alteração e uniformização curriculares têm sido uma constante, bem

como as discussões sobre a identidade deste profissional. Passando pelos currículos mínimos de 1962, de pouca duração; de 1969, ao qual este ensino estava submetido até poucos anos atrás; e o atual currículo, desde 2002, que visa formar um profissional generalista, humanista, crítico e reflexivo, para atuar em todos os níveis de atenção à saúde.

Assumindo esta nova identidade, bem como participando do movimento mundial que se desenha na busca de uma efetiva promoção da saúde, o Farmacêutico é chamado a sair de seus “balcões”, voltando a trabalhar com os usuários dos medicamentos e dos serviços farmacêuticos. Isto os reaproxima da comunidade, como os profissionais mais acessíveis à população, sendo responsáveis não apenas pela dispensação de medicamentos, mas também de informações e cuidados com a saúde.

Com a ampliação do conceito de Saúde, que era entendida somente como “a ausência de doença”, para um conceito mais global, como um estado de “completo bem estar físico, mental e social” (DECLARAÇÃO DE ALMA-ATA, 1978) as ações de Promoção da Saúde tornam-se destaque nas políticas públicas em todo o cenário mundial.

Na primeira Conferência Internacional sobre Promoção da Saúde, esta ação foi definida como:

[...] processo de capacitação da comunidade para atuar na melhoria de sua qualidade de vida e saúde, incluindo uma maior participação no controle deste processo [...]. [...] a promoção da saúde apóia o desenvolvimento pessoal e social através da divulgação de informação, educação para a saúde e intensificação das habilidades vitais (CARTA DE OTTAWA, 1986).

Contudo, tendo como base a definição apresentada, uma reflexão se faz necessária, porque mais do que informar sobre o uso correto dos medicamentos, sobre hábitos saudáveis de vida, e como prevenir-se de enfermidades, o Farmacêutico tem em suas mãos a missão de fazer com que a pessoa seja **sujeito de sua saúde** e não apenas usuário, paciente ou cliente. Mas, como ele deve atuar, para produzir essa nova atitude?

Para esta indagação, busquei algumas reflexões nos atuais conceitos de Educação, como uma prática transformadora e emancipadora.

A análise foi feita sob a ótica de que, na prática do cuidado ao usuário do medicamento, o Farmacêutico atua como Educador, uma vez que neste momento ele se apresenta como o líder do processo ensino-aprendizagem.

Por esses motivos, educação e saúde estão intimamente vinculadas, pois o conhecimento é não apenas necessário, mas fundamental para a construção de modos de ser saudáveis. A própria definição de saudável exige conhecimento, não um conhecimento que possa ser reproduzido, repetido de geração em geração, mas um conhecimento que se renova a cada instante, acompanhando o movimento da existência e buscando um equilíbrio entre a estrutura interna de uma subjetividade e seu entorno, a saúde como equilíbrio (AIUB, 2007).

Como assinala Brandão (1981), a Educação existe em toda parte, e não está somente no que é formal, oficial, técnico. Ela existe além dos sistemas e das salas de aula. E sempre aparece onde há relações entre as pessoas e intenções de ensinar e de aprender. Na convivência, o saber flui, pelos atos de quem sabe e faz, para quem não sabe e aprende.

Segundo Severino (2002), “[...] educar-se é apreender-se e se construir cada vez mais como sujeito”. Nesta perspectiva, cabe refletir também sobre o papel do Farmacêutico como mediador no processo de conhecimento dos modos de ser dos usuários de medicamentos, provocando-os a pensar sobre si mesmo, a conhecer a si mesmo, e a cuidar de si mesmo.

[...] A educação é investimento na consolidação do sujeito autônomo e dotado de vontade. Não cabe à educação “fazer” pessoas, mas despertá-las para sua autonomia mediante os recursos da cultura... A educação é um processo de auto-realização do sujeito, desabrochar de suas potencialidades. Está em pauta a individuação, a construção do eu, pois só um sujeito realizado, dotado de vontade livre e autonomia pode tornar-se agente sobre o mundo natural e a sociedade. (SEVERINO, 2002).

Em matéria publicada recentemente pela Revista *ISTO É*, foram apresentados dados sobre o crescimento, em todo o mundo, do número de pessoas que tomam remédios de forma errada, levando a inúmeros e sérios casos de intoxicações.

Dentre as principais causas identificadas estão: o uso acidental (principalmente por crianças pequenas), os efeitos adversos (entendido como qualquer efeito não desejado, decorrente do uso de produtos sob vigilância sanitária), a automedicação e os erros na administração (dose ou via erradas).

Esta mesma matéria relata um estudo realizado na Inglaterra, onde se constatou que, de cada cinco ingleses, um tomava o medicamento prescrito de forma er-

rada. O motivo apontado foi a falta de orientação aos usuários. Uma das saídas adotada pelos médicos, neste estudo, foi contar com o Farmacêutico, como orientador da população.

De acordo com Paulo Freire (1996) “É exatamente neste sentido que ensinar não se esgota no tratamento do objeto ou do conteúdo, superficialmente feito, mas se alonga à produção das condições em que aprender criticamente é possível”.

Parafraseando os “Quatro Pilares da Educação”, apresentados no Relatório Jacques Delors (UNESCO, 2006), a prática farmacêutica de cuidados ao usuário, deve buscar refletir sobre:

- ✓ **Aprender a conhecer:** é muito importante que o farmacêutico, bem como o usuário do medicamento, aprenda a compreender o mundo que os rodeia; conhecer o seu corpo, seus limites, seus recursos internos e externos, visando alcançar um auto-cuidado consciente, reduzindo assim a auto-medicação muitas vezes irresponsável.
- ✓ **Aprender a fazer:** o farmacêutico deve se comprometer em fazer com que o usuário do medicamento coloque em prática os conhecimentos e as informações adquiridas. Ele deve se perguntar: como mudar comportamentos?
- ✓ **Aprender a viver juntos, aprender a viver com os outros:** em sua interação com o usuário do medicamento, o farmacêutico deve respeitar suas especificidades bio-psico-sociais, ou seja, procurar vê-lo como um ser integral, complexo (e não somente um “Rim”, ou um “Joelho”), um ser pensante, com suas emoções e paixões, e que também faz parte de um grupo, que tem seus costumes, suas crenças. Neste momento, o farmacêutico deve respeitar inteiramente as diversidades e se despir de todos os preconceitos.
- ✓ **Aprender a ser:** a busca deve acontecer no sentido de desenvolver a si, como “profissional integral” e o usuário do medicamento em sua totalidade, para desta forma termos sujeitos conscientes e preparados para decidir por uma vida saudável.

[...] Faz parte de sua tarefa docente não apenas ensinar os conteúdos mas também ensinar a pensar certo [...] Pensar certo, pelo contrário, demanda

profundidade e não superficialidade na compreensão e na interpretação dos fatos. [...] É por isso que transformar a experiência educativa em puro treinamento técnico é amesquinhar o que há de fundamentalmente humano no exercício educativo: o seu caráter formador. Se se respeita a natureza do ser humano, o ensino dos conteúdos não pode dar-se alheio à formação moral do educando. Educar é substantivamente formar (FREIRE, 1996).

## CONCLUSÃO

“Pensar certo – e saber que ensinar não é transferir conhecimento é fundamental para pensar certo – é uma postura exigente, difícil, às vezes penosa, que temos de assumir diante dos outros e com os outros, em face do mundo e dos fatos, ante nós mesmos”... (FREIRE, 1996).

O Farmacêutico, por sua acessibilidade, é o profissional da saúde que mais reúne condições para atuar junto aos usuários de medicamentos neste processo de Educação para a Saúde.

Precisamos primeiramente nos reconhecer enquanto profissionais de saúde, para depois identificarmos em nossa atuação a possibilidade de transformação. E assim, assumirmos nosso papel de Educador, buscando mediar e provocar a mudança de clientes, pacientes, usuários, para Sujeitos de sua Saúde.

Ainda não há consenso do termo mais adequado para descrever este processo de educação na área da saúde, pois encontramos diferentes nomeações como Educação para a Saúde, Educação em Saúde, Educação Sanitária. O que percebemos claramente é que para desenvolvermos as ações de Promoção da Saúde, Prevenção de Enfermidades, e Uso Racional de Medicamentos, necessariamente perpassamos a dimensão educativa.

Sendo assim, a prática farmacêutica se apresenta como uma prática multidimensional, solicitando de todos nós, profissionais da área, uma postura flexível, aberta e investigativa, na busca de uma efetiva atuação como profissionais da saúde.

## AGRADECIMENTOS

Agradecimentos a minha orientadora Profa. Dra. Alda Luiza Carlini e à Profa. Dra. Sonia Aparecida Ignácio da Silva, da disciplina de Seminário de Monografia.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIUB, M. Filosofia, cotidiano e aprendizagem de ser saudável. In: MORENO, L. V. A.; ROSITO, M. M. B. (orgs.). **O sujeito na educação e saúde: desafios na contemporaneidade**. São Paulo: Centro Universitário São Camilo; Edições Loyola, 2007.
- BRANDÃO, C. R. **O que é Educação**. 49. 1. ed. São Paulo: Brasiliense, 2007.
- BRASIL. Resolução CNE/CES nº 02, de 19 de fevereiro de 2002. Institui Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação em Farmácia. **A Organização Jurídica da Profissão Farmacêutica**, 5. ed., Brasília, 2007.
- BRASIL. Resolução nº 417, do Conselho Federal de Farmácia, de 29 de setembro de 2004. Aprova o Código de Ética da Profissão Farmacêutica. **A Organização Jurídica da Profissão Farmacêutica**, 5. ed. Brasília, 2007.
- CORDEIRO, B. C.; LEITE, S. N. (orgs.). **O farmacêutico na atenção à saúde**. 2. ed. Itajaí: Universidade do Vale do Itajaí, 2008.
- DÁDER, M. J. F.; MUÑOZ, P. A.; MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, F. **Atenção Farmacêutica: conceitos, processos e casos práticos**. Tradução e revisão: Maria Denise Funchal Witzel. São Paulo: RCN Editora, 2008.
- DELORS, J. (org.). **Educação: um tesouro a descobrir**. 10. ed. São Paulo: Cortez; Brasília, DF: MEC: UNESCO, 2006.
- FREIRE, P. **Pedagogia da Autonomia: saberes necessários à prática educativa**. 35. ed. São Paulo: Paz e Terra, 1996.
- GRECCHI, R. C. D. R. **Mudanças paradigmáticas no processo educativo farmacêutico: alguns desafios**. Piracicaba, 2001. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Educação da Universidade Metodista de Piracicaba).
- HEPLER, C. D.; STRAND, L. M. **Oportunidades y responsabilidades en atención farmacéutica**. Pharm Care Esp., Madrid, v. 1, n. 1, p. 35-47, 1999 (título original: Opportunities and responsibilities in pharmaceutical care. Am J Hosp Pharm. Bethesda, v. 47, p. 533-543, 1990).
- ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Carta de Ottawa: primeira conferência internacional sobre promoção da saúde**. Ottawa, 1986. Disponível em: <http://www.opas.org.br/coletiva/uploadArq/Ottawa.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2008, às 20h08.
- ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Consenso Brasileiro de Atenção Farmacêutica: Proposta**. Brasília, 2002. Disponível em: <http://www.ccs.uel.br/espacoparasaude/v4n2/doc/atenfarm.pdf>. Acesso em: 20 set. 2007, às 21h43.
- ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Declaração de Alma-Ata: conferência internacional sobre cuidados primários de saúde**. Alma-Ata, 1978. Disponível em: <http://www.opas.org.br/coletiva/uploadArq/Alma-Ata.pdf>. Acesso em: 17 ago. 2008 às 20h04.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Relatório da Oficina de Trabalho: **Atenção Farmacêutica no Brasil** – Trilhando Caminhos. Fortaleza, 2001. Disponível em: [http://www.ans.gov.br/portal/upload/forum\\_saude/forum\\_bibliografias/atencaoasaude/DD%201%20Aten%C3%A7%C3%A3o%20Farmac%C3%AAutica%20no%20Brasil.pdf](http://www.ans.gov.br/portal/upload/forum_saude/forum_bibliografias/atencaoasaude/DD%201%20Aten%C3%A7%C3%A3o%20Farmac%C3%AAutica%20no%20Brasil.pdf). Acesso em: 20 set. 2007, às 22h12.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DEL SALUD. **El papel del farmacêutico em la atención a la salud**. Ginebra, 1988.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DEL SALUD. **El papel del farmacêutico em la atención a la salud**: declaración de Tóquio. Ginebra, 1993.

PINTO, A. V. **Sete lições sobre educação de adultos**. São Paulo: Cortez/ Autores Associados, 1982.

RODRIGUES, G. **Erro na dose**. ISTO É, São Paulo, ed. 2027, 10 set. 2008. Editora Medicina & Bem-Estar. Disponível em: <http://www.terra.com.br/istoe> Acesso em: 11 set. 2008, às 21h05.

SANTOS, M. R. C. **A Profissão Farmacêutica no Brasil**: História, Ideologia e Ensino. Ribeirão Preto: Holos, 1999.

SEVERINO, A. J. **Educação, sujeito e história**. São Paulo: Olho d'Água, 2002.

STARLING, H. M. M.; GERMANO, L. B. P.; SCHMIDT, P. (orgs.). **Farmácia**: ofício e história. Belo Horizonte: Conselho Regional de Farmácia do Estado de Minas Gerais, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The role of the pharmacist in the health care system**: preparing the future pharmacist. Geneve, 1997. Disponível em: <http://www.opas.org.br/medicamentos/site/UploadArq/who-pharm-97-599.pdf> Acesso em: 20 de setembro de 2007, às 22h30.

# HIPERTENSÃO ARTERIAL: PRODUTOS NATURAIS, UMA NOVA PERSPECTIVA DE TRATAMENTO

MELISSA NEGRO LUCIANO<sup>1</sup>  
VERA LUCIA PEREIRA DOS SANTOS<sup>2</sup>  
EUNICE KYOSEN NAKAMURA<sup>3</sup>  
MAICON NEGRO-LUCIANO<sup>4</sup>  
MARCOS JUKLINSKI<sup>4</sup>

1. Docente de Pós-Graduação da Academia Brasileira de Ciências da Educação-ABRASCE, Av. Cândido de Abreu, 427 CJ 1409, Curitiba, PR, 80.530-903
2. Docente das Faculdades Integradas do Brasil-Unibrasil, Rua Konrad Adenauer, 442, Tarumã, Curitiba, PR., 82.820-540 903.
3. Coordenadora do Curso de Enfermagem do Centro Universitário Campos de Andrade-Uniandrade, Rua Marumby, 283, Santa Quitéria, Curitiba, PR., 81.220-090.
4. Acadêmicos do Curso de Enfermagem do Centro Universitário Campos de Andrade (Uniandrade) – Rua Marumby, 283 – Santa Quitéria – Curitiba – PR – Brasil – CEP: 81220-090.

Autor responsável: M.N. Luciano.  
E-mail: melissanegroLuciano@gmail.com

## INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial é uma condição clínica na qual a pressão do sangue está acima das medidas consideradas normais por um período longo de tempo (KAPLAN, 2001).

É um importante fator de risco para doenças decorrentes de aterosclerose e trombose, que se exteriorizam, predominantemente, por acometimento cardíaco, cerebral, renal e vascular periférico. É responsável por 25 e 40% da etiologia multifatorial da cardiopatia isquêmica e dos acidentes vasculares cerebrais, respectivamente. Essa multiplicidade de conseqüências coloca a hipertensão arterial na origem das doenças cardiovasculares e, portanto, caracteriza-a como uma das causas de maior redução da qualidade e expectativa de vida dos indivíduos (PASSOS et al., 2006).

No Brasil, as doenças cardiovasculares são responsáveis por 33% dos óbitos com causas conhecidas. Além disso, essas doenças foram as primeiras causas de hospitalização no setor público, entre 1996 e 1999, e responderam por 17% das internações de pessoas com idade entre 40 e 59 anos e 29% daquelas com 60 ou mais anos (LIMA e COSTA et al., 2000) e as projeções da Organização das Nações Unidas (ONU) (2002) indicam que a mediana da idade populacional passará, de 25,4 anos em 2000 a 38,2 anos em 2050. Uma das conseqüências desse envelhecimento populacional é o aumento das prevalências de doenças crônicas, entre elas a hipertensão (WHO, 1998).

Estudos de prevalência da hipertensão no Brasil, entre 1970 e início dos anos 90, revelam valores de prevalência entre 7,2 e 40,3% na Região Nordeste, 5,04 a 37,9% na Região Sudeste, 1,28 a 27,1% na Região Sul e 6,3 a 16,75% na Região Centro-Oeste (LESSA, 1993).

As alterações na pressão arterial que desencadeiam o estado hipertensivo decorrem, em parte, do aumento da contratibilidade da camada muscular lisa que forma a parede da artéria. Algumas substâncias químicas do próprio organismo promovem a contração das artérias. Em situações de desequilíbrio dessas substâncias, ou da alteração dessa camada muscular ocorre aumento da pressão do sangue dentro dos vasos (KAPLAN, 2001).

São descritas anormalidades no músculo liso vascular e no endotélio associadas ao comprometimento da função dessas estruturas. Entre essas disfunções, podemos considerar o aumento da vasoconstrição e a redução da vasodilatação, tanto dependente como independente do endotélio vascular. A perda do equilíbrio entre o relaxamento e a contração é freqüentemente citada como uma das causas do aumento do tônus vascular na hipertensão (DOGGRELL & BROWN, 1998).

Na literatura, encontramos outras associações com o estado hipertensivo e anomalias cardiovasculares (FOLKON, 1982). Estas anomalias incluem aumento da parede em relação à luz das artérias (SAFAR et al., 1981), aumento da resistência periférica e diminuição da complacência venosa (TAKESHITA & MARK, 1979), aumento da quantidade de massa cardíaca e muscular lisa (FOLKON, 1982)., como

também anomalias intrínsecas na função renal (COLEMAM et al., 1994).

Um dos principais fatores de risco para complicações cardiovasculares é a hipertensão arterial, pois atua diretamente na parede das artérias, podendo produzir lesões. Deste fato, percebemos a importância do tratamento anti-hipertensivo na redução da morbidade e mortalidade cardiovasculares, principalmente na prevenção de acidentes vasculares, insuficiência cardíaca e insuficiência renal (PESSUTO & CARVALHO, 1998).

Nas duas últimas décadas, o aprofundamento do conhecimento científico dos mecanismos de controle da pressão arterial, principalmente dos mediadores endógenos, permitiu a obtenção de medicamentos inovadores com novas possibilidades terapêuticas para a hipertensão arterial. O entendimento da função fisiopatológica da angiotensina II (ANDERSON et al., 1990; JEUNEMAITRE et al, 1992), do óxido nítrico (PALMER et al, 1997), das endotelinas (YANAGISAWA & MASAKI, 1989) do peptídeo natriurético atrial (BRENNER et al, 1990) e dos metabólitos do ácido araquidônico (McGIFF et al., 1991), abriu fronteiras no estudo de novas formas de intervenção na pressão arterial.

Atualmente, diversos medicamentos com diferentes tipos de mecanismos de ação são amplamente utilizados para o tratamento da hipertensão arterial, como os inibidores da enzima conversora de angiotensina I, antagonistas dos receptores de angiotensina II, antagonistas dos canais de cálcio, bloqueadores de receptores beta-adrenérgicos, bloqueadores alfa-adrenérgicos, nitrovasodiladores e diuréticos (BRUNTON et al, 2006).

As plantas, desde o início dos tempos, são fundamentais para a alimentação e a cura de enfermidades. A utilização de plantas é baseada na crença popular e nas várias formações culturais que as usa como recursos terapêuticos. O emprego das plantas medicinais é predominantemente empírico, mas apesar disso, elas continuam a serem utilizadas pela população e não foram substituídas pelos fármacos sintéticos. São vários os motivos que levam a população a optar pelo uso de plantas medicinais, entre eles: insatisfação com a eficácia, custo elevado dos medicamentos e efeitos indesejáveis dos medicamentos alopatícos convencionais. Tal valorização das plantas medicinais impulsionou a busca de informações comprovadas cientificamente sobre a segurança e eficácia terapêutica destas plantas (SIMÕES et al., 2000).

Em diversos países no mundo, bem como no Brasil, plantas vem sendo utilizadas como fonte alternativa de medicamentos. Estimativas mostram que o mercado mundial de produtos farmacêuticos movimentou cerca de 320

bilhões/ano, dos quais 22 bilhões são provindos de fontes naturais. No Brasil, estima-se que 25% dos 8 bilhões do faturamento da indústria farmacêutica sejam derivados de plantas (SIMÕES et al., 2000). Estes dados revelam o interesse da população mundial por plantas medicinais.

A flora brasileira é a mais rica do mundo em matéria prima para a produção de fitofármacos (cerca de 1/3 do total), porém apenas 8% dessa flora é objeto de estudo atual. Assim, é de suma importância que pesquisadores brasileiros foquem seus estudos nessa área, com o objetivo de buscar uma fonte alternativa de medicamentos e novos fármacos mais eficazes e específicos (SIMÕES et al., 2000)..

Das doenças que afetam a população, aquelas que acometem o sistema cardiovascular têm despertado bastante interesse. O uso de terapias alternativas, de ervas e de suplementos é comum entre os pacientes com algum tipo de doença cardiovascular. A preocupação com a possibilidade de essas terapias causarem interações com os medicamentos utilizados para o tratamento da hipertensão arterial e outras doenças, tem sido relatada na literatura (MANSOOR, 2001). Essa preocupação tem impulsionado a comunidade científica a avaliar possíveis efeitos cardiovasculares de plantas utilizadas pela população para o tratamento da hipertensão arterial.

No Brasil, o problema geral no tratamento da hipertensão arterial está ligado principalmente ao fato de que a industrialização dessas drogas depende de instituições multinacionais, o que encarece substancialmente o custo da droga. Outro agravante é o fato da maior parte da população não ter poder aquisitivo para dispor de um plano de saúde ou mesmo comprar o medicamento. Desse modo, é indispensável o estudo das plantas medicinais com a finalidade de buscar alternativas terapêuticas eficazes, seguras e de baixo custo para o tratamento da hipertensão arterial.

## MATERIAL E MÉTODOS

---

Revisar a literatura científica publicada por pesquisadores nacionais sobre perspectivas de tratamento da hipertensão arterial com produtos naturais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

---

A literatura nos mostra diferentes grupos farmacológicos que proporcionam atividade vasodilatadora por diferentes mecanismos de ações de drogas utilizadas atu-

almente para o tratamento da hipertensão arterial (BRUNTON et al, 2006).

Os produtos naturais provocam vasodilatação por uma série de mecanismos diferentes. Mecanismos dependentes do endotélio vascular são avaliados na literatura. Estudos mostram envolvimento dos canais de potássio, dos canais de sódio, do óxido nítrico, da guanilato-ciclastase, da via das ciclooxigenases (MCNEILL & JURGENS, 2006).

A inibição da enzima conversora da angiotensina (ECA) é um alvo terapêutico moderno e eficaz no tratamento da hipertensão arterial. Na cascata enzimática que envolve o sistema renina-angiotensina, a ECA promove a remoção dos aminoácidos histidil-leucina da angiotensina I para formar o octapeptídeo angiotensina II, a qual é fisiologicamente ativa em diversos sistemas, e considerada como um dos mais potentes vasoconstritores endógenos conhecido. Portanto, uma racionalidade no tratamento da hipertensão seria administrar drogas ou compostos de origem natural que inibam seletivamente a ECA. Em cima desse mecanismo, trabalhos demonstram baseados na observação *in vitro*, que no Brasil há várias espécies de plantas e moléculas de origem natural com potencial anti-hipertensivo, baseados na inibição da enzima conversora de angiotensina (BARBOSA-FILHO et al., 2006). Alguns desses mecanismos serão demonstrados e comprovados nos estudos abaixo.

O tônus vascular de pequenas artérias e arteríolas contribuem para a resistência periférica na circulação e controle da pressão arterial. Canais de potássio parecem ter um papel crucial no potencial de membrana celular e um importante papel no controle do tônus vascular, sendo assim, os efeitos dos canais de potássio podem ser utilizados para controle da pressão arterial. Neste mesmo trabalho, o autor demonstra que a diocleína, um flavonóide extraído da *Dioclea grandiflora*, apresentou efeito inotrópico negativo quando testada em ratos e induziu vasodilatação associada à diminuição da resistência periférica total. Os efeitos da diocleína foram endotélio-independente e foram inibidos por bloqueadores de canais de potássio. Como conclusão, este estudo, ao qual foi utilizado metodologia *in vivo* e *in vitro*, mostrou que a diocleína diminui a pressão arterial em ratos normotensos com diminuição da resistência periférica total. A ação vasodilatadora da diocleína é mediada por canais de potássio e hiperpolarização de membrana (CÔRTEZ et al., 2001).

Os efeitos cardiovasculares induzidos pela fração aquosa do extrato etanólico de *Solanum stipulaceum* foram estudados em ratos. Em ratos não anestesiados,

o extrato produziu hipotensão significativa e dose-dependente, associada ao aumento da frequência cardíaca. No anel isolado da artéria mesentérica superior de ratos, o extrato foi capaz de antagonizar as contrações induzidas pela administração de fenilefrina e KCl. A atividade vasodilatadora do extrato não foi inibida pela remoção do endotélio, administração de atropina ou indometacina. No átrio isolado de ratos, o extrato produziu efeitos cronotrópicos e inotrópicos negativos, dependentes da concentração. Os resultados sugerem que o efeito hipotensivo está relacionado com a vasodilatação periférica, não podendo ser atribuído à participação do endotélio vascular. Por último, o extrato atua no coração diminuindo a contratilidade cardíaca (RIBEIRO et al., 2002).

A fração aquosa do extrato etanólico de folhas de *Albizia inopinata* foi testado em ratas normotensas e hipertensas. Nas ratas normotensas, provocou uma diminuição da pressão arterial, acompanhada de um aumento da frequência cardíaca, dependente da dose. Nas ratas hipertensas, o extrato provocou hipotensão aguda, sem modificações significativas da frequência cardíaca. Nos anéis da aorta isolados, concentrações crescentes do extrato antagonizaram as contrações provocadas pela fenilefrina e KCl. Os resultados sugerem que o efeito vasodilatador parece ser claramente dependente da liberação de óxido nítrico pelo endotélio vascular. Como conclusão, o extrato demonstra a diminuição da pressão arterial em ratas normotensas e hipertensas, provavelmente devido à diminuição da resistência periférica total. O efeito hipotensor maior demonstrado em ratas hipertensas é causado provavelmente por vasodilatação potencializada (MACIEL et al, 2002).

A vasicina, um alcalóide isolado das folhas de *Sida cordifolia* L. teve seus efeitos cardiovasculares avaliados. Em ratos não anestesiados, a vasicina induziu hipotensão associada com intensa bradicardia. Ambas as respostas foram abolidas após a administração de atropina e atenuadas após a administração de hexametônio. Em anéis da artéria mesentérica isolada de ratos, a vasicina induziu relaxamento do tônus dependente da concentração promovida pela administração prévia da fenilefrina. Em conclusão, os resultados mostrarão que a vasicina produz hipotensão e bradicardia que parecem ocorrer devido à excitação de receptores muscarínicos cardíacos (direta ou indiretamente) e por uma diminuição da resistência periférica (SILVEIRA et al., 2003).

Um óleo essencial obtido das partes aéreas da *Mentha x villosa* foi avaliado pelos seus efeitos cardiovasculares utilizando uma combinação de testes *in vivo*

e *in vitro*. Em ratos não anestesiados normotensos, o óleo induziu significativa hipotensão e bradicardia dependente da dose. O efeito hipotensor e a bradicardia foram atenuadas e bloqueadas pelo pré-tratamento dos animais com atropina. No átrio isolado de rato, o óleo produziu efeitos inotrópicos e cronotrópicos negativos. Em anéis isolados da aorta de ratos, com aumento da concentração, o óleo foi capaz de antagonizar as contrações induzidas pela administração da fenilefrina, da prostaglandina  $F_{2a}$  e do KCL. O efeito vasodilatador da substância foi atenuado significativamente pela remoção do endotélio, administração de NG-nitro-L-arginina-metil-éster (L-NAME) (inibidor da síntese de óxido nítrico) ou indometacina, mas não foi afetado pela administração de atropina. Esses resultados sugerem que a ação vasodilatadora ocorre principalmente pela ação cardiodepressora direta e vasodilatação periférica, podendo ser atribuído tanto a mecanismos dependentes do endotélio (pelo fator relaxante derivado do endotélio, óxido nítrico e prostaciclina) e mecanismos independentes do endotélio (como o bloqueio do canal de cálcio) (NUNES et al., 2004).

A atividade farmacológica cardiovascular do extrato hidroalcoólico das folhas de *Sida cordifolia* foram avaliados. Em ratos normotensos não anestesiados, houve a indução de hipotensão e bradicardia. A resposta hipotensora foi completamente abolida depois da administração de atropina e potencializada após a administração de hexametônio, enquanto que a bradicardia foi abolida após a administração de atropina e atenuada após a administração de hexametônio. Em ratos tratados com hexametônio, a resposta hipotensora foi significativamente atenuada. Em ratos normotensos, anestesiados e vagotomizados, tanto a resposta hipotensora quanto a bradicardia foram significativamente atenuadas. A anestesia com tiopental não afetou a resposta induzida pelo extrato, quando comparada com a resposta induzida em ratos não-anestesiados. Como conclusão, os resultados obtidos mostram que o extrato hidroalcoólico das folhas de *Sida cordifolia* produz hipotensão e bradicardia, principalmente pela estimulação direta de receptores muscarínicos no endotélio vascular e ativação indireta re receptores muscarínicos cardíacos (MEDEIROS et al., 2006).

- Efeitos cardiovasculares do extrato hidroalcoólico do caule de *Xylopiya cayennensis* foram testados em ratos utilizando abordagens *in vivo* e *in vitro*. Em ratos não anestesiados, ocorreu hipotensão dose independente associado a um aumento da frequência cardíaca. Esta resposta hipotensora não foi atenuada depois do blo-

queio com L-NAME. Em anéis de aorta isolados de ratos, o extrato foi capaz de relaxar o tônus induzido pela fenilefrina. A atividade vasorelaxante não foi inibida pela remoção do endotélio vascular e antagonizou as contrações induzidas por  $CaCl_2$  em meio despolarizante nominalmente sem  $Ca^{+2}$ . O extrato antagonizou dependente de concentrações as contrações transientes induzidas pela administração de cafeína em meio livre de  $Ca^{+2}$ , contudo não alterou aquelas induzidas pela noradrenalina. Em átrio isolado de rato, promoveu efeito inotrópico e cronotrópico negativo. Esses resultados demonstraram que o extrato hidroalcoólico do caule de *Xylopiya cayennensis* apresenta um potente efeito hipotensor, provavelmente em consequência a diminuição da resistência periférica total, que parece em parte, devido a uma ação inibitória sobre o influxo de  $Ca^{+2}$  através de canais de cálcio dependentes de voltagem e também através da liberação de  $Ca^{+2}$  dos estoques intracelulares sensíveis à cafeína. Atua diretamente no coração diminuindo a contratilidade e a frequência cardíaca, sendo que estes efeitos apresentam pequena importância na expressão da resposta hipotensiva induzida pelo extrato (NASCIMENTO et al., 2006).

A atividade farmacológica cardiovascular do extrato etanólico de folhas da *Hancornia speciosa* Gomes foi avaliada em anéis de artéria mesentérica superior de ratos. O extrato produziu uma vasodilatação dependente da dose em anéis pré-contraídos com fenilefrina, que foi totalmente abolida em anéis isolados de seu endotélio. A vasodilatação dependente de endotélio induzida pelo extrato foi fortemente reduzida pela administração de L-NAME, mas não por atropina, um antagonista de receptor muscarínico, nem indometacina, um inibidor da ciclooxygenase. Em anéis pré-contraídos com KCL, o efeito vasodilatador foi deslocado para a direita e totalmente abolido na presença de L-NAME. Efeitos semelhantes foram obtidos em anéis de mesentérica superior de ratos pré-contraídos com fenilefrina, na presença de KCL isoladamente ou em complemento com L-NAME. Na presença de  $BaCl_2$ , a resposta vasodilatadora induzida pelo extrato foi completamente abolida. Em conjuntos, essas constatações levaram a conclusão de que o extrato induz uma vasodilatação dependente de endotélio, por mecanismo dependente de óxido nítrico sobre a ativação dos canais de potássio e da liberação do fator hiperpolarizante derivado de endotélio. Rutina, o alcalóide do extrato identificado com o maior pico na cromatografia líquida de alta eficiência, pode estar contribuindo para o efeito vasodilatador observado (FERREIRA et al., 2007).



Em ratos não anestesiados normotensos, o óleo essencial de *Hyptis fruticosa* induziu hipotensão associada com taquicardia. Em anéis isolados da artéria mesentérica superior de ratos pré-tratados com fenilefrina induziu relaxamento do tônus dependente da concentração e também foi capaz de antagonizar as curvas de concentração-resposta para  $\text{CaCl}_2$  dependente da dose (SANTOS et al., 2007).

O óleo essencial obtido da destilação por vapor de água das folhas, raiz e frutos da *Ocotea duckei* teve sua composição química e atividade farmacológica avaliada mostrando significantes efeitos cardiovasculares. O principal componente encontrado nas folhas foi o *trans*-cariofileno, nas cascas do caule foi o beta-eudesmol e nos frutos o dl-limoneno. O componente predominante do óleo essencial das raízes foi o elemol. Em ratos normotensos e não anestesiados, o óleo essencial de diferentes partes induziu significativamente hipotensão seguida de bradicardia (BARBOSA-FILHO et al., 2008).

## CONCLUSÃO

Sabemos que a medicina popular, principalmente em países em via de desenvolvimento, desfruta posição relevante nos dias de hoje. A medicina popular desempenha um papel fundamental para a descoberta de novos produtos naturais.

O Brasil, além de apresentar uma flora extremamente rica e com potencial para o desenvolvimento desses novos medicamentos, apresenta uma população onde a maior parte dela não tem acesso à medicina moderna e que muitas vezes, não tem condições financeiras de manutenção de tratamento com os medicamentos atualmente utilizados.

Este trabalho nos mostra o potencial do Brasil para o desenvolvimento de novos fármacos a base de produtos naturais para o tratamento da hipertensão arterial, com pesquisadores capacitados e substâncias da nossa flora com potencial comprovado para essa finalidade, porém, os investimentos para a pesquisa em desenvolvimento de novos fármacos, tanto com ações farmacológicas no sistema cardiovascular ou em outros sistemas, ainda são insuficientes.

## AGRADECIMENTOS

Prof. Isac Almeida de Medeiros (UFPB) e Prof. José Osmar Carolino (ABRASCE).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, P. W., MACAULAY, L., DO, Y. S. Extrarenal renin-secreting tumors: insights into hypertension and ovarian renin production. *Medicine*, 68: 257-268, 1990.
- BARBOSA-FILHO, J. M., CUNHA, R. M., DIAS, C. S., ATHAYDE-FILHO, P. F., SILVA, M. S., DA-CUNHA, E. V. L., MACHADO, M. I. L., CRAVEIRO, A. A., MEDEIROS, I. A. GC-MS analysis and cardiovascular activity of the essential oil of *Ocotea duckei*. *Braz J Pharmacog.* 18 (1): 37-41, 2008.
- BARBOSA-FILHO, J. M., MARTINS, V. K. M., RABELO, L. A., MOURA, M. D., SILVA, M. S., CUNHA, E. V. L., SOUZA, M. F. V., ALMEIDA, R. N., MEDEIROS, I. A. Natural products inhibitors of the angiotensin converting enzyme. A review between 1980-2000. *Braz J Pharmacog.* 16 (3): 421-446, 2006.
- BRENNER, B. M., BALLERMANN, B. J., GUNNING, M. E., ZEIDEL, M. L. Diverse biological actions of atrial natriuretic peptide. *Physio Rev*, 70: 665-699, 1990.
- BRUNTON, L. L., LAZO, J. S., PARKER, K. L. Ed: *Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica*. Rio de Janeiro: Mc-Graw-Hill, 2006. 1821p.
- COLEMAM, R. A., SMITH, W. L., NARUMIYA, S. International Union of Pharmacology classification of prostanoid receptors: properties, distribution and structure of the receptors and their subtypes. *Pharmacol Rev*, 46: 205-229, 1994.
- CÔRTEZ, S. F., REZENDE, B. A., CORRIU, C., MEDEIROS, I. A., TEIXEIRA, M. M., LOPES, M. J., LEMOS, V. S. Pharmacological evidence for the activation of potassium channels as the mechanism involved in the hypotensive and vasorelaxant effect of dioclein in rat small resistance arteries. *Brit J Pharm.* 133: 849-858, 2001.
- DOGGRELL, S. A., BROWN, L. Rat model of hypertension cardiac hypertrophy and failure. *Cardiovas Res*, 39: 89-105, 1998.
- FERREIRA, H. C., SERRA, C. P., ENDRINGER, D. C., LEMOS, V. S., BRAGA, F. C., CÔRTEZ, S. F. Endothelium-dependent vasodilation induced by *Hancornia speciosa* in rat superior mesenteric artery. *Phyto-med*, 14 (7-8): 473-478, 2007.
- FOLKON B. Physiological aspects of primary hypertension. *Physiol Rev*, 62: 347-504, 1982.
- JEUNEMAITRE, X., SOUBRIER, F., KOTELEVTSOV, Y. V. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell*, 71: 169-180, 1992.
- KAPLAN, N. M. Systemic Hypertension: Ed: *Mechanisms and diagnostics in Braunwald, Zips, Libby*. In: Heart Disease: Saunders, 28: 954-960, 2001.
- LESSA I. Estudos brasileiros sobre a epidemiologia da hipertensão arterial: análise crítica dos estudos de prevalência. Informe Epidemiológico do SUS, 3: 59-75, 1993.
- LIMA E COSTA, M. F. F., GUERRA, H. L., BARRETO, S. M., GUIMARÃES, R. M. Diagnóstico da situação de saúde da população idosa brasileira: um estudo da mortalidade e das internações hospitalares públicas. Informe epidemiológico do SUS. 9 (1): 23-41, 2000.

- MACIEL, S. S., DIAS, K. L. G., ALMEIDA, R. N., MEDEIROS, I. A. Comparison of the hypotensive effect induced by the ethanol extract of *Albizia inopinata* G. P. Lewis in normotensive and chronically L-NAME hypertensive rats. *Acta Farmacéutica Bonaerense*. 21 (1): 75-79, 2002.
- MANSOOR, G. A. Herbs and alternative therapies in the hypertension clinic. *Am J of Hyperten*. 14 (9): 971-975, 2001.
- MCGIFF, J. C., CARROL, M. A., ESCALANTE, B. Arachidonate metabolites and kinins in blood pressure regulation. *Hypertension*, 18: III 150 – III 170, 1991.
- MCNEILL, J. F., JURGENS, T. M. A systematic review of mechanisms by which natural products of plant origin evoke vasodilatation. *Can J Physio Pharmacol*. 84: 803-821, 2006.
- MEDEIROS, I. A., SANTOS, M. R., NASCIMENTO, N. M., DUARTE, J. C. Cardiovascular effects of *Sida cordifolia* leaves extract in rats. *Fitoterapia*. 77 (1): 19-27, 2006.
- NASCIMENTO, A. A., RIBEIRO, E. A. N., OLIVEIRA, J. M., MEDEIROS, F. A., SILVA, M. S., MEDEIROS, I. A. Cardiovascular effects induced by the hydroalcoholic extract of the stem of *Xylopia cayennensis* in rats. *Braz J Pharmacog*. 16 (1): 17-21, 2006.
- NUNES, G. D., SILVA, D. F., BARBOSA-FILHO, J. M., MEDEIROS, I. A. Endothelium-dependent hypotensive and vasorelaxant effects of the essential oil from aerial parts of *Mentha x villosa* in rats. *Phytomedicine*. 11 (6): 490-497, 2004.
- PALMER, R. M. J., FERRIGE, A. G., MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-dependent relaxation. *Nature*, 327: 524-526, 1987.
- PASSOS, V. M. A., ASSIS, T. D., BARRETO, S. M. Hypertension in Brasil: Estimates from population-based prevalence studies. *Epidemiol e Serv de Saúde*, 15 (1): 35-45, 2006.
- PESSUTO, J., CARVALHO, E. C. Fatores de risco em indivíduos com hipertensão arterial. *Rev Lat Am de Enf*. 6: 33-39, 1998.
- RIBEIRO, E. A. N., BATITUCCI, M. C. P., LIMA, J. A. T., ARAÚJO, I. G. A., MAUAD, H., MEDEIROS, I. A. Cardiovascular effects induced by the aqueous fraction of the ethanol extract of the stem of *Solanum stipulaceum* in rats. *Braz J Pharmacog*. 12: 34-35, 2002.
- SAFAR, M. E., PERONNEAU, P. P., LEVENSON, J. A., TOTO-MOUKOUO, J. A., SIMON, A. C. Pulsed Doppler: diameter, blood flow velocity and volumic flow of the brachial artery in sustained essential hypertension. *Circulation*. 66: 393-400, 1981.
- SANTOS, M. R. V., CARVALHO, A. A., MEDEIROS, I. A., ALVES, P.B., MARCHIORO, M., ANTONIOLLI, A. R. Cardiovascular effects of *Hypotis fruticosa* essential oil in rats. *Fitoterapia*, 78: 186-191, 2007.
- SILVEIRA, A. L., GOMES, M. A. S., SILVA-FILHO, R. N., SANTOS, M. R. V., MEDEIROS, I. A., BARBOSA-FILHO, J. M. Evaluation of the cardiovascular effects of vasicine, na alkaloid isolated from the leaves of *Sida cordifolia* L. (Malvaceae). *Braz J Pharmacog*. 14: 37-39, 2003.
- SIMÕES, C. M. O., MENTZ, L.A., SCHENKEL, E. P., GOSMANN G., MELLO, J. C. P., PETROVICK, P. R. In: *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 2000. 1102p.
- TAKESHITA, A., MARK, A. L. Decrease venous distensibility in borderline hypertension. *Hypertension*. 1: 202-206, 1979.
- YANAGISAWA, M., MASAKI, T. Endothelium, a novel endothelium-derived peptide. Pharmacological activities, regulation and possible roles in cardiovascular control. *Biochem Pharmacol*, 38 (12): 1877-83, 1989.
- World Health Organization. Population aging; a public health challenge. Geneva: WHO, 1998.

# ESTUDO DE UTILIZAÇÃO DE MEDICAMENTOS POR PACIENTES DO JARDIM ELBA (SP)

ROBSON MANOEL DA SILVA<sup>1</sup>  
JOÃO PAULO DOS SANTOS FERNANDES<sup>2</sup>

1. Acadêmico do curso de Farmácia da Universidade do Grande ABC, UniABC.
2. Farmacêutico, Docente da Disciplina de Farmacodinâmica, Universidade do Grande ABC, Centro de Ciências da Saúde, Av. Industrial, 3330 – B, Campestre, 09080-501 – Santo André, SP.

Autor Responsável: J. P. S. Fernande.  
E-mail: jpsfer@usp.br

## INTRODUÇÃO

É de notório saber que medicamentos são utilizados com finalidade terapêutica, mas muitas vezes sua utilização pode trazer efeitos indesejáveis e possivelmente perigosos (BRUNTON *et al.*, 2007). Portanto, é importante que a utilização de medicamentos seja supervisionada por profissionais competentes. O farmacêutico pode intervir nesta ação para promover o uso racional de medicamentos, através do exercício da atenção farmacêutica (VIEIRA, 2007).

A farmacoepidemiologia nasceu do interesse epidemiológico sobre o uso de medicamentos, pela extensão de seu uso pela população e percepção do risco inerente à utilização (OSÓRIO-DE-CASTRO *et al.*, 2004). A farmacoepidemiologia é um instrumento de grande importância social, visto que os resultados das pesquisas realizadas estão ligados diretamente e indiretamente na redução dos gastos com a saúde, uso racional de medicamentos, e o mais importante diminui os agravos iatrogênicos na população (BISSON, 2008). Além disso, os dados farmacoepidemiológicos podem otimizar a qualidade da assistência farmacêutica desempenhada pelo profissional farmacêutico, promovendo melhoria na qualidade de vida dos pacientes (PEREIRA *et al.*, 2004).

Dentre os diversos tipos de estudos farmacoepidemiológicos, destacam-se os estudos de utilização de medicamentos (EUM), definidos pela Organização Mundial da Saúde como avaliação da comercialização, distribuição, prescrição e uso de medicamentos em uma sociedade, com ênfase especial sobre as consequências médicas, sociais e econômicas resultantes (WHO EXPERT COMMITTEE, 1977). Os EUM são poderosas ferramentas para detectar problemas relacionados a medicamentos (PRM), e portanto, podem melhorar a qualidade da assistência farmacêutica,

permitindo uma intervenção mais precisa do farmacêutico, pois este terá conhecimento suficiente dos medicamentos mais utilizados por aquela população (PEREIRA, 2004).

Este trabalho tem como objetivo realizar um EUM por pacientes do Jardim Elba, bairro situado na zona leste da cidade de São Paulo-SP, para que possa ser utilizado em ações de assistência farmacêutica para a utilização racional de medicamentos na região estudada.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foi realizado um estudo observacional de corte transversal da dispensação de medicamentos em uma drogaria situada no Jardim Elba. Os dados foram coletados no período de junho a setembro de 2007, através do preenchimento de um questionário adequado, com 7 questões abertas e fechadas. Participaram do estudo 63 pacientes, maiores de 20 anos de idade, sem restrição quanto ao sexo e queixa clínica, em tratamento com algum tipo de medicamento.

O trabalho foi realizado dentro dos padrões exigidos pela Declaração de Helsique e foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa da Universidade do Grande ABC (CAPPesq-UniABC). Todos os participantes tiveram explicações adequadas do estudo e deram consentimento através da assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

## RESULTADOS

Os pacientes participantes foram questionados quanto à queixa clínica principal, divididas em hipertensão, diabetes, desordens do sistema nervoso central

(SNC), neoplasia, outras e indivíduos que se consideravam “não-doentes”. Cerca de 30% dos indivíduos alegaram como doença principal a hipertensão, 19% relataram *diabetes mellitus* (DM), desordens centrais com 6% dos indivíduos, e neoplasia, relatada por 3% dos participantes. No grupo denominado “outras”, foram relatados quadros como hipotireoidismo, osteoporose, artropatias, infecções respiratórias e doenças auto-imunes, encontram-se 28% dos entrevistados. Os medicamentos utilizados por cada grupo foram classificados como antimicrobianos, anti-inflamatórios (incluindo anti-histamínicos e corticosteróides), antifúngicos, psicotrópicos, anti-hipertensivos e hipoglicemiantes. O perfil de utilização de medicamentos pelos indivíduos pode ser visualizado na figura 1.

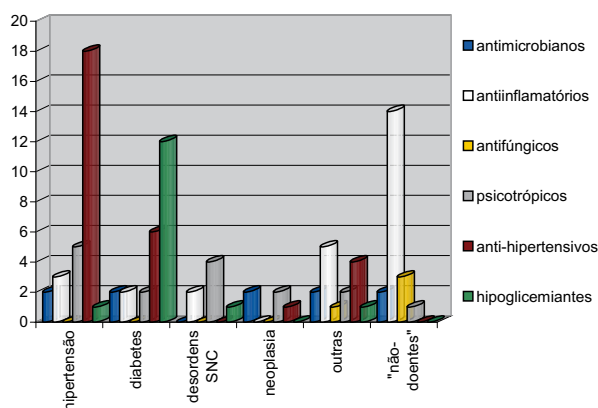


Figura 1. Perfil de utilização de medicamentos pelos grupos de participantes.

Os grupos de medicamentos mais utilizados na região são mostrados na figura 2.

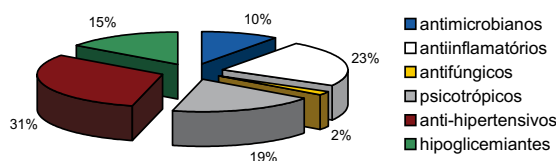


Figura 2. distribuição dos medicamentos utilizados pelos participantes.

## DISCUSSÃO

Os dados obtidos mostram que a principal classe de medicamentos utilizados pelos indivíduos foram os anti-hipertensivos, seguidos pelos psicotrópicos e hipoglicemiantes (Figura 2). É interessante ressaltar que

dos indivíduos entrevistados que relatavam hipertensão, muitos utilizavam paralelamente aos anti-hipertensivos, hipoglicemiantes e psicotrópicos (figura 1). A utilização concomitante de anti-hipertensivos e hipoglicemiantes ocorre na farmacoterapia da síndrome metabólica (SM), caracterizada por pressão arterial alta, resistência à insulina, obesidade abdominal e dislipidemia, sendo que tal condição aumenta o risco de doenças cardiovasculares (DCV) (LUSIS *et al.*, 2008). Pacientes que utilizam anti-hipertensivos e hipoglicemiantes concomitantemente podem ser avaliados quanto à presença de SM, e receberem tratamento farmacológico diferenciado. Lusis e colaboradores (2008) publicaram uma revisão das diversas abordagens que podem ser utilizadas na farmacoterapia da SM, e Bramlage e colaboradores (2008) verificaram que a utilização de terapia combinada com candesartano e hidroclorotiazida reduzem os fatores de risco de DCV. Neste estudo, cerca de 4% dos pacientes que consideram como principal quadro a hipertensão utilizam paralelamente hipoglicemiantes, e 50% dos que consideram o DM como patologia principal utilizam anti-hipertensivos.

A principal classe de psicotrópicos citada pelos entrevistados foram os benzodiazepínicos, e a utilização destes por indivíduos hipertensos pode ser entendida como adjuvante da terapia anti-hipertensiva. Dentre vários fatores, a hipertensão pode ser ocasionada ou agravada por estresse (ESLER *et al.*, 2008), e desta forma, benzodiazepínicos podem auxiliar na redução da pressão arterial (PICKERING & CLEWOW, 2008; MABADEJE & ADEBAYO, 1989). Cerca de 17% dos indivíduos enquadrados como hipertensos e 8% dos diabéticos faziam uso de benzodiazepínicos como agente terapêutico secundário. Alguns pacientes também relataram a utilização de anticonvulsivantes (fenitoína e carbamazepina) e alguns antidepressivos, principalmente inibidores seletivos da recaptura de serotonina (ISRS).

Entre os indivíduos que consideram a DM como quadro principal, cerca de 17% fazem uso de anti-inflamatórios e antimicrobianos. O DM é uma patologia que leva a lesões ateroscleróticas na microvasculatura, principalmente das extremidades, causando ulcerações (LAWRENCE, 2006). Tais lesões são complicadas com infecções bacterianas, muitas vezes graves. Portanto, pacientes diabéticos utilizam antimicrobianos para o tratamento de tais infecções, principalmente beta-lactâmicos, clindamicina e fluorquinolonas (NELSON *et al.*, 2006). Os anti-inflamatórios se justificam pela redução e prevenção de DCV relacionadas ao DM, sendo o principal fármaco utilizado o ácido acetilsalicílico (SHRIVASTAVA *et al.*, 2008).

Pacientes portadores de neoplasias (dois indivíduos) relataram a utilização de apenas três classes de medica-

mentos: antimicrobianos, psicotrópicos e anti-hipertensivos. O psicotrópico utilizado por esses indivíduos é a codeína, fármaco utilizado como analgésico para aliviar dores relacionadas à neoplasia. Embora a codeína (um opióide) tenha alto potencial de dependência, sua utilização é muito comum nesses casos (RODRIGUEZ *et al.*, 2007). Outros agentes podem ser utilizados para o controle da dor associada ao câncer, porém a codeína é o principal que pode ser dispensado em drogarias.

Muitos indivíduos entrevistados responderam o questionário sem queixa clínica pois não se consideravam “doentes”. Curiosamente, esses indivíduos fazem uso de medicamentos das mais variadas classes, sendo a principal delas os antiinflamatórios e anti-histamínicos. Quase a totalidade desses indivíduos fazem uso dos medicamentos sem prescrição médica. Apenas um indivíduo que faz uso de psicotrópico tinha prescrição médica. O uso de antiinflamatórios e anti-histamínicos por 14 pessoas é compreendido porque muitos desses medicamentos são de venda livre, tornando o acesso mais fácil e induzido por propaganda. A quantidade de medicamentos de venda livre favorece a automedicação, e esta é ocasionada por fatores como não-cumprimento da apresentação da receita médica (ARRAIS *et al.*, 1997). Os dois antimicrobianos utilizados por esses pacientes (amoxicilina e norfloxacino) são medicamentos que devem ser utilizados com prescrição e supervisão médica, procedimento sempre negligenciado no Brasil. Além disso, o período de coleta de dados (junho a setembro) compreende ao período de inverno, onde as condições climáticas favorecem o aparecimento de doenças do trato respiratório, aumentando a utilização de antiinflamatórios, anti-histamínicos e antimicrobianos (TAVARES *et al.*, 2008). Além disso, alguns indivíduos “não-doentes” estavam fazendo uso de antifúngicos, e portanto, esses indivíduos não consideram micoses como uma afecção que merece atenção.

## CONCLUSÃO

Com relação aos resultados, pode-se concluir que na região estudada há prevalência de doenças crônicas, como hipertensão e DM, e portanto, os medicamentos mais utilizados são os anti-hipertensivos e hipoglicemiantes. Há também grande utilização de psicotrópicos, principalmente benzodiazepínicos, normalmente como terapia secundária.

Pela quantidade de indivíduos fazendo utilização de medicamentos sem prescrição médica ou supervisão de um profissional de saúde, percebe-se a necessidade de

exercício da atenção farmacêutica na região. Como a população do bairro pesquisado é de baixa renda, tem menor acesso à saúde e muitas vezes procura a farmácia como primeiro recurso. Consequentemente, o farmacêutico deve estar presente no estabelecimento e orientar a utilização correta e racional de medicamentos (VIEIRA, 2007).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARRAIS, P.S.D.; COELHO, H.L.L.; BATISTA, M.C.D.S.; CARVALHO, M.L.; RIGHI, R.E.; ARNAU, J.M. Perfil da automedicação no Brasil. *Rev. Saúde Pública*, v.31, p.71-7, 1997.
- BISSON, M.P. *Farmácia clínica e atenção farmacêutica*. 2 ed. Barueri: Manole, 2008, 374p.
- BRAMLAGE, P.; SCHÖNROCK, E.; ODOJ, P. Metabolic effects of an AT1-receptor blockade combined with HCTZ in cardiac risk patients: a non interventional study in primary care. *BMC Cardiovasc. Disord.*, v.10, p.8-30, 2008.
- BRUNTON, L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. (Eds.) *Goodman & Gilman as bases farmacológicas da terapêutica*. 11 ed. São Paulo: McGraw Hill, 2007, 1847p.
- ESLER, M.; EIKELIS, N.; SCHLAICH, M.; LAMBERT, G.; ALVARENGA, M.; DAWOOD, T.; KAYE, D.; BARTON, D.; PIER, C.; GUO, L.; BRECHLEY, C.; JENNINGS, G.; LAMBERT, E. Chronic mental stress is a cause of essential hypertension: presence of biological markers of stress. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*, v.35, p.498-502, 2008.
- LAWRENCE, J.C. Jr. Insulina e fármacos utilizados na terapia do diabetes melito. In: MINNEMAN, K.P.; WECKER, L. (Eds.) *Brody – farmacologia humana*. 4 Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006. p.443-457.
- LUSIS, A.J.; ATTIE, A.D.; REUE, K. Metabolic syndrome: from epidemiology to systems biology. *Nat. Rev. Genet.*, v.9, p.819-30, 2008.
- MABADEJE, A.F.; ADEBAYO, G.I. Comparative effects of labetalol and bromazepam on ambulatory blood pressure of Nigerians with labile and stress hypertension. *Clin. Exp. Hypertens. A.*, v.11, supl.1, p.441-7, 1989.
- NELSON, E.A.; O'MEARA, S.; GOLDBERGER, S.; DALTON, J.; CRAIG, D.; IGLESIAS, C.; DASIDU STEERING GROUP. Systematic review of antimicrobial treatments for diabetic foot ulcers. *Diabet. Med.*, v.23, p.348-59, 2006.
- OSÓRIO-DE-CASTRO, C.G.S.; PAUMGARTEN, F.J.R.; SILVER, L.D. O uso de medicamentos na gravidez. *Ciênc. Saúde Coletiva*, v.9, p.987-96, 2004.
- PEREIRA, L.R.L.; VECCHI, L.U.P.; BAPTISTA, M.E.C.; CARVALHO, D. Avaliação da utilização de medicamentos em pacientes idosos por meio de conceitos de farmacoepidemiologia e farmacovigilância. *Ciênc. Saúde Coletiva*, v.9, p.479-81, 2004.
- PICKERING, T.G.; CLEMOW, L. Paroxysmal hypertension: the role of stress and psychological factors. *J. Clin. Hypertens. (Greenwich)*, v.10, p.575-81, 2008.

RODRIGUEZ, R.F.; CASTILLO, J.M.; DEL PILAR CASTILLO, M.; NUÑEZ, P.D.; RODRIGUEZ, M.F.; RESTREPO, J.M.; RODRIGUEZ, J.M.; ORTIZ, Y.; ANGEL, A.M. Codeine/acetaminophen and hydrocodone/acetaminophen combination tablets for the management of chronic cancer pain in adults: a 23-day, prospective, double-blind, randomized, parallel-group study. *Clin, Ther.*, v.29, p.581-7, 2007.

SHRIVASTAVA, R.; KHAN, A.; JEEVANANTHAM, V.; NAUTIYAL, A.; GARG, P.; REDDY, P.C. Control of cardiovascular risk factors and use of aspirin in diabetic patients remain elusive. *South Med. J.*, v.101, p.606-11, 2008.

TAVARES, N.U.L.; BERTOLDI, A.D.; MUCCILLO-BAISCH, A.L. Prescrição de antimicrobianos em unidades de saúde da família no Sul do Brasil. *Cad. Saúde Pública*, v.24, p.1791-800, 2008.

VIEIRA, F.S. Possibilidades de contribuição do farmacêutico para a promoção da saúde. *Cad. Saúde Pública*, v.12, p.213-20, 2007.

WHO EXPERT COMMITTEE. *The selection of essential drugs*. Technical report series 615. Geneva: World Health Organization, 1977.

# IMPLANTAÇÃO DO PROGRAMA 5S EM LABORATÓRIO DE ENSINO

FERNANDA PAIFFER<sup>1</sup>  
ROBSON V. M. OLIVEIRA<sup>2</sup>  
MARTA MARIA DUARTE CARVALHO VILA<sup>2</sup>

1. Acadêmica Curso de Farmácia, Universidade de Sorocaba – UNISO, Rodovia Raposo Tavares km 92,5 Sorocaba-SP, Brasil
2. Docente Curso de Farmácia, Universidade de Sorocaba – UNISO, Rodovia Raposo Tavares km 92,5 Sorocaba-SP, Brasil

Autor responsável: M. Vila.  
E-mail: marta.vila@prof.uniso.br

## INTRODUÇÃO

A Gestão da Qualidade é primordial para o estabelecimento e sobrevivência de uma instituição ou empresa e permite viabilizar o controle de atividades, informações e documentos de forma eficiente e dinâmica. Dentre as muitas ferramentas que podem ser utilizadas para implantação da Gestão da Qualidade destaca-se o Programa 5S. Este programa tem aplicabilidade em diversos tipos de empresas e órgãos, pois traz benefícios a todos que convivem no local com melhoria no ambiente e nas condições de trabalho, saúde e higiene (FALCONI, 2004; OLIVARES, 2006).

Programa 5S foi concebido por Kaoru Ishikawa em 1950, no Japão do pós-guerra, visando aperfeiçoar os poucos recursos existentes em um país destruído pela guerra. O Programa 5S demonstrou ser tão eficaz enquanto reorganizador das empresas e da própria economia japonesa que, até hoje, é considerado o principal instrumento de gestão da qualidade e produtividade, contribuindo para a obtenção do padrão de qualidade dos produtos japoneses (CARVALHO, 2006). O Programa 5S é um processo educacional cuja prática é desenvolvida nas atividades do dia-a-dia, de modo pouco teórico e muito prático proporcionando organização racional do local de trabalho e contribuindo para a padronização dos processos e melhoria contínua (VIEIRA FILHO, 2003). O nome 5S provém das iniciais de cinco palavras japonesas, que designam cada um dos procedimentos a serem adotados, a saber:

**Seiri** (Senso de Utilização ou Descarte) – Objetiva identificar e separar tudo o que é necessário do que é desnecessário, dando destino para os elementos não utilizados e agrupando os objetos úteis por ordem de impor-

tância. Possibilita melhor organização do local, criação de novos espaços, diminuição da perda de tempo e desperdício de recursos.

**Seiton** (Senso de Organização ou Ordenação) – Significa colocar cada objeto no seu único e exclusivo lugar. Os objetos devem ser dispostos e agrupados segundo características próprias, para que possam ser utilizados prontamente. Refere-se à disposição sistemática dos objetos com adequada comunicação visual através da utilização de etiquetas de identificação de objetos e materiais, locais e tarefas de cada setor.

**Seiso** (Senso de Limpeza) – Significa eliminar a sujeira e as suas fontes com o objetivo de construir um ambiente de trabalho limpo e agradável que proporcione segurança e qualidade de vida as pessoas (saúde física e mental). Cada indivíduo deve limpar sua própria área de trabalho e ser consciente das vantagens de não sujar.

**Seiketsu** (Senso de Saúde e Higiene) – Consiste em manter as boas condições sanitárias do ambiente de trabalho, o que inclui a limpeza geral e o controle de poluição de qualquer natureza como poluição atmosférica, sonora e visual. Refere-se à execução dos três sentidos anteriores de forma sistematizada, ou seja, manter o descarte, a organização e implantar o padrão de limpeza de forma contínua, com a atenção à própria saúde física, mental e emocional. A padronização dos processos permite que todas as tarefas sejam cumpridas voluntária e rotineiramente, para que os resultados sejam sempre aqueles esperados, a fim de melhorar o desempenho da organização.

**Shitsuke** (Senso de Autodisciplina) – Almeja a manutenção da ordem geral e das condições adquiridas com intolerância aos erros (não às pessoas), buscando processos mais eficientes. Procura-se criar hábito conscien-

te e voluntário visando manter e praticar corretamente o que foi determinado nos procedimentos operacionais estabelecidos, constituindo a base para a harmonia das atividades previstas nos 4S anteriores (VANTI, 1999; REBELLO, 2005).

Como benefícios advindos da implantação do Programa 5S em instituições e empresas destacam-se: eliminação do desperdício; otimização do espaço; criação de um ambiente de trabalho agradável; prevenção de acidentes de trabalho; redução/eliminação de condições inadequadas de trabalho; mudança de comportamentos e hábitos; melhoria nas relações humanas; desenvolvimento do espírito de equipe; desenvolvimento da autodisciplina; padronização de processos; aumento da confiabilidade dos dados de controle, entre outros (CARVALHO, 2006). A utilização do Programa 5S propicia a redução de erros e falhas e, conseqüentemente, minimiza desperdícios, seja de tempo, energia ou matérias (COELHO *et al.*, 1999).

A implantação da metodologia 5S, exige a avaliação das características e necessidades de cada local e cada etapa deve ser avaliada buscando-se o entendimento da necessidade de sua execução. Sabendo-se qual o objetivo a ser atingido será mais fácil desdobrá-lo para dentro da organização (FRANÇA, 2003).

Os laboratórios de Instituições de Ensino Superior dão suporte às atividades de ensino e pesquisas e devem proporcionar aos seus usuários, satisfação com qualidade dos recursos e serviços oferecidos, respeitando-se os processos adotados na armazenagem, descarte, recebimento e utilização de espaço. Assim, o objetivo deste trabalho foi a implantação do Programa 5S em um laboratório químico voltado ao ensino e pesquisa visando proporcionar um ambiente adequado ao desenvolvimento das atividades propostas trazendo benefícios para os alunos e para a Instituição em função das enormes vantagens advindas.

## METODOLOGIA

A implantação do Programa 5S foi realizada, em um laboratório de ensino e pesquisa de uma Instituição de Ensino Superior, onde são ministradas aulas práticas de diversos componentes curriculares para alunos de cursos da área de saúde.

A metodologia utilizada para auxiliar o planejamento e ações em todas as etapas de implantação do programa foi o Método 5W e 1H, considerando os seguintes questionamentos, em cada situação ou problema: WHY (Por quê?); WHAT (O quê?); HOW (Como?); WHO (Quem?); WHERE (Onde?); WHEN (Quando?) (REBELLO, 2005).

Com o propósito de diagnosticar a situação do laboratório, detectando-se os principais problemas, causas, possíveis soluções, visando conhecer os recursos disponíveis e estabelecer as prioridades (MACIEL, 1993) foi realizado um levantamento sobre os equipamentos (estado de conservação, freqüência de uso) e vidrarias (tipos, quantidade, uso) através da análise de requisições de preparações de aulas feitas por professores da universidade entre os meses de fevereiro a novembro de 2007. Além disso, os funcionários e estagiários do laboratório foram entrevistados quanto à rotina operacional, e os locais fotografados antes e após a intervenção.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados relativos à porcentagem de utilização objetivaram estabelecer a disponibilização mais adequada para os equipamentos e vidrarias de maior uso. Com a análise das requisições verificou-se maior uso das balanças granatárias e de tubos de ensaios (utilizados sempre em maior volume) (Figs. 1 e 2).

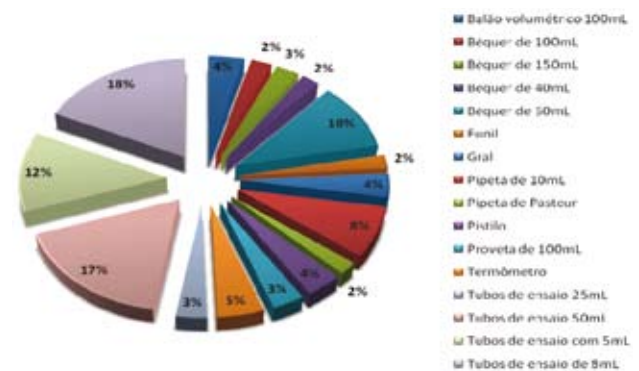


Figura 1. Porcentagens de utilização das diferentes vidrarias no laboratório

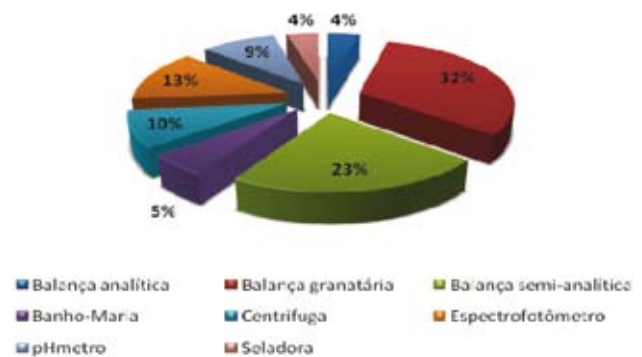


Figura 2. Porcentagens de utilização dos diferentes equipamentos



Os equipamentos que necessitavam manutenção foram listados e armazenados em local próprio para aguardo de reparos e aqueles de uso reduzido foram retirados das bancadas e armazenados em locais adequados. Com a eliminação dos itens desnecessários e de fontes de sujeira (como por exemplo, equipamento sem condições de

uso) espaços foram disponibilizados, gerando melhoria nas acomodações de materiais e obtenção de visual mais limpo (Figs 3 e 4). Conseqüentemente, observou-se maior facilidade de busca de qualquer material devido à facilidade de visualização.



Figura 3. Equipamentos para manutenção armazenados em local próprio



Figura 4. Retirada de equipamentos e liberação de espaço

Os pop's (Procedimentos Operacionais Padrão) foram revisados e disponibilizados buscando-se evitar utilização inadequada dos instrumentos, o que pode permitir, a médio e longo prazo, redução de gastos com manutenção dos equipamentos.

Um problema também detectado no laboratório foi relativo aos materiais empregados em experimentos de iniciação científica, pois muitas vezes, ficavam em locais não específicos, sem a devida identificação, o que impedia o

descarte por parte dos funcionários do laboratório (Fig. 5). Para resolução desta situação foram designados espaços sob bancadas para o armazenamento das substâncias, matérias e reagentes dos alunos de iniciação científica. Além disto, para minimizar o acúmulo de materiais oriundos dos projetos de iniciação científica foi proposto um formulário contendo nome do aluno, início do projeto, término, e nome do orientador. A partir desses dados esses materiais puderam ser adequadamente armazenados ou descartados.



Figura 5. Materiais e reagentes de iniciação científica encontrados no laboratório

A seguir, substâncias (matérias primas e reagentes) e vidrarias foram agrupadas e classificadas. Diversos reagentes e matérias primas estavam dispostos aleatoriamente em armários com portas de vidros acarretando um visual não agradável além de ficarem expostos a luz indireta (Fig. 6 superior). Assim, esses materiais foram realocados em armários fechados sob as bancadas e identificados (Fig. 6 inferior). As vidrarias estavam armazenadas sob as bancadas, sem identificação, o que dificultava o acesso (Fig. 7 superior). Essas vidrarias

foram distribuídas em armários com portas de vidro e, os mesmos, receberam etiquetas com cores específicas contendo nome (por ordem alfabética) e volume de cada vidraria (Fig. 7 inferior). Essa metodologia de identificação foi feita para todos os outros tipos de materiais. A identificação dos materiais com diferentes cores (Tabela 1) e nomenclatura visível foi colocada para facilitar o acesso de funcionários, alunos e estagiários e resolveu de forma satisfatória o problema de visualização e proteção da luz.

Tabela 1. Cores empregadas na identificação

Emprego	Cor de identificação
Vidraria	Etiqueta Amarela
Materiais específicos de professores e alunos de iniciação científica	Etiqueta Cinza
Demais materiais	Etiqueta Azul



Figura 6. Matérias primas e reagentes armazenadas em armários com portas de vidro, antes da implantação do 5S (superior) e matérias primas após da implantação do 5S (inferior).



Figura 7. Vidrarias com diferentes volumes e sem identificação, antes da implantação do 5S (superior) e vidrarias após da implantação do 5S (inferior).

## CONCLUSÕES

---

A melhor distribuição e racionalização do espaço físico geraram um ambiente propício e mais adequado para realização de trabalhos relacionados ao ensino e pesquisa, tanto para os alunos, quanto para os funcionários e professores. A reorganização e distribuição dos aparelhos e vidrarias facilitaram a utilização e acesso dos mesmos. A implantação dos formulários contendo data de término dos projetos de iniciação científica proporcionou melhor controle de descarte destes materiais.

No entanto, a manutenção da organização estabelecida depende de uma mudança de comportamento por parte de todos os usuários, que muitas vezes, resistem às mudanças propostas. Além disto, para o sucesso e melhoria contínua o Programa 5S deve ser constantemente reavaliado, sendo necessário que grupos de trabalho reúnam-se para verificar a continuidade do programa e propor novas ações. Todos os funcionários devem ser cientes da importância das pessoas para o sucesso do programa e melhoria da qualidade de serviços prestados. Este processo de organização só pode ser mantido adequadamente e aprimorado continuamente se as pessoas que utilizam o laboratório no dia-a-dia se reeducarem.

## AGRADECIMENTOS

---

Os autores agradecem à farmacêutica Valéria de Campos Orsi e a técnica Márcia Castanho Martinez Josef pela colaboração no desenvolvimento do trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- CARVALHO, P. C. *O Programa 5S e a qualidade total*. 4. Ed., Campinas: Editora Alínea, 2006.
- COELHO, A. I. M.; CAMPOS, M.T. F.S.; SILVA, R.R. et al. Programa 5S adaptado ao gerenciamento da alimentação escolar no contexto da descentralização. *Rev. Nutr.* v.12, p. 289-302, 1999.
- FRANÇA, A. O programa 5S sem segredos: um roteiro para implementar o programa 5S em sua organização. *CD – Falando de Qualidade*, São Paulo: Editora EPSE, 2003.
- FALCONI, V.C. *Controle da qualidade total (no estilo japonês)*. Rio de Janeiro: Block, 1995.
- MACIEL, A.C. *Planejamento de bibliotecas: o diagnóstico*. Niterói: EDUFF, 1993.
- REBELLO, M. A. F. R. Implantação do programa 5S para a conquista de um ambiente de qualidade na Biblioteca do Hospital da Universidade de São Paulo. *Relato de Experiência. RDBCI* v. 3, n. 1, p. 165-182, 2005.
- OLIVARES, I. R. B. *Gestão de qualidade em laboratórios*. Campinas: Editora Átomo, 2006.
- VANTI, N. Ambiente de qualidade em uma biblioteca universitária: aplicação do 5S e de um estilo participativo de administração. *Ci. Inf.* v.28, n.3, p.333-339, 1999.
- VIEIRA FILHO, G. *Gestão da qualidade total*. Campinas: Editora Alínea, 2003.

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS UTILIZADAS NA MEDICINA POPULAR DA AMAZÔNIA

CHRISTIAN MIRANDA RIBEIRO<sup>1</sup>  
KAIRA GEILIANE DA SILVA SOUZA<sup>2</sup>  
TIAGO AUGUSTO CHAGAS RIBEIRO<sup>2</sup>  
ANTONIA BENEDITA RODRIGUES VIEIRA<sup>3</sup>  
LÚCIA CARLA VASCONCELOS MENDONÇA<sup>2</sup>  
WAGNER LUIZ RAMOS BARBOSA<sup>1,2</sup>  
JOSÉ MARIA DOS SANTOS VIEIRA<sup>1,2</sup>

1. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas/Instituto de Ciências da Saúde/Universidade Federal do Pará
2. Faculdade de Farmácia/ Instituto de Ciências da Saúde/Universidade Federal do Pará
3. Instituto de Ciências Biológicas/Universidade Federal do Pará

Autor responsável: J.M.S.VIEIRA.  
E-mail: jmvieira@ufpa.br

## INTRODUÇÃO

Por um longo período de tempo, plantas têm sido uma das fontes de produtos naturais para a manutenção da saúde humana. As mais diversas enfermidades têm sido tratadas com chás, sucos, tinturas, banhos, cataplasmas e unguentos, preparados a partir de parte das plantas (ROBERTS et al., 1997).

As observações populares sobre o uso e a eficácia de plantas medicinais contribuem, de forma relevante, para a divulgação das virtudes terapêuticas dos vegetais, prescritos com frequência, pelos efeitos medicinais que produzem, apesar de não terem seus constituintes químicos conhecidos, mas tornando válidas informações terapêuticas que foram sendo acumuladas durante séculos (MACIEL et al., 2002). Porém, desde o advento dos antibióticos, o uso de derivados de plantas como antimicrobianos tem sido virtualmente inexistente (COWAN, 1999).

Embora as indústrias químicas e farmacêuticas tenham produzido uma imensa variedade de diferentes antibióticos nos últimos tempos, cada vez mais tem sido observado o aumento de microrganismos resistentes aos antimicrobianos disponíveis no mercado, incentivando a busca de novas fontes de substâncias com atividades antimicrobianas. Além disso, a alta incidência de infecções, principalmente em indivíduos imunocomprometidos, aumenta a importância da procura e da descoberta de compostos terapêuticos alternativos. De acordo com a Organização Mundial de Saúde, plantas medicinais deveriam ser a melhor fonte para obter-se uma variedade de drogas (PRASHAR et al., 2003).

Sendo assim, pesquisas voltadas para o estudo e a avaliação de produtos naturais como terapêuticos e principalmente com atividade antimicrobiana devem ser estimulados no intuito de criar novas drogas. Dentro desse contexto, os estudos com plantas utilizadas na medicina popular representam prioridade na Amazônia, pela variedade e riqueza de sua flora.

No Brasil encontram-se cerca de 20% das 250 mil espécies medicinais catalogadas pela Organização das Nações Unidas, facilitando o aproveitamento do potencial curativo dos vegetais para o tratamento de doenças (DRUMOND et al., 2004). Na Amazônia existe grande diversidade vegetal, onde se encontram muitas plantas com propriedades medicinais e, que durante milênios são utilizadas pelas comunidades nativas.

O projeto "Padronização de Preparações Tradicionais à Base de Plantas Medicinais para o Desenvolvimento de Fitoterápicos" realizado pelo Programa Pobreza e Meio Ambiente (POEMA) do Núcleo de Meio Ambiente (NUMA) da Universidade Federal do Pará (UFPA) caracterizou algumas espécies vegetais de uso medicinal tradicional visando o aproveitamento em fitoterápicos. A triagem das plantas através de questionário etnofarmacêutico, selecionou espécies vegetais utilizadas para doenças que possam ter como agentes bactérias ou fungos (BARBOSA & PINTO, 2001). A partir desta seleção foi avaliada, no presente trabalho, a atividade antimicrobiana de seis espécies utilizadas na medicina popular da Amazônia: *Psidium guajava* L. (goiabeira), *Bryophyllum calycinum* Salisb (pirarucu), *Eleutherine plicata* Herb (marupazinho), *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmelin (Unha de gato),

*Arrabidaea chica* (HKB) Verlot (pariri) e *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (cipó d'alho).

## MATERIAL E MÉTODOS

### Coleta e Identificação:

As plantas foram coletadas no horto de plantas medicinais da EMBRAPA Amazônia Oriental e identificadas no Laboratório de Botânica desta Instituição sendo uma exsicata depositada no Herbário da EMBRAPA Amazônia Oriental. As seis espécies vegetais, distribuídas em família, nome local, órgão testado e uso popular estão descritas no Tabela 1.

### Preparação dos extratos:

As análises foram realizadas segundo as metodologias utilizadas pelo Laboratório de Fitoquímica do Departamento de Farmácia (BARBOSA et al 2004). Para a obtenção dos extratos etanólicos bruto as folhas frescas de goiabeira, pirarucu, unha-de-gato, pariri, cipó d'alho e bulbos de marupazinho, após a limpeza, foram deixadas por 7 dias à temperatura ambiente e 2 dias em estufa de ventilação separadamente para secagem. O material vegetal foi então triturado e macerado por duas semanas, isoladamente, em 1500 mL de etanol a 95%. Em seguida, os macerados foram filtrados e concentrados à baixa pressão a 50°C em evaporador rotatório. O concentrado foi colocado em estufa por 24 h a 45°C. A partir destes concentrados foram preparadas as soluções para testes de atividade antimicrobiana.

### Microorganismos:

Os microrganismos testados foram cepas padrão *American Type Collection Culture* (ATCC) de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 10145) e *Candida albicans* (ATCC 10231) recomendadas para testes de suscetibilidade aos antimicrobianos (CLSI, 2003a).

### Preparação do inóculo:

Os inóculos foram preparados tomando-se 3 a 4 colônias da cepa isolada em ágar Muller-Hinton e diluídas em solução salina a 0,85% até atingir a turbidez correspondente ao tubo 0,5 da escala de Mac-Farland (CLSI, 2003a).

### Avaliação Preliminar da atividade antimicrobiana

Para avaliação da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos bruto foi empregado o método de disco difusão em ágar, baseado na técnica descrita por (BAUER et al. 1996). Cada suspensão de microrganismo foi semeada (em triplicata), com auxílio de um *swab* descartável, em toda a superfície de meio ágar Muller Hinton. Em seguida foram adicionados discos de papel filtro (Whatman – tipo 3), de 6 mm de diâmetro, impregnados com 10 µL de cada extrato das plantas testadas em uma concentração de 500 mg/mL dissolvidos em DMSO. Após incubação das placas a 35°C por 24 h foi realizada a leitura dos resultados medindo-se o halo formado ao redor dos discos contendo os extratos. Foi considerado como resultado final de cada extrato a média das 3 medidas e como suscetível halo igual ou acima de 8 mm de diâmetro (PAREKH & CHANDA, 2007; SANTOS et al 2007).

**Tabela 1.** Espécie vegetal, família, nome local, órgão testado e uso popular

Espécie vegetal	Família	Nome local	Órgão testado	Uso popular
<i>Psidium guajava</i> L.	Myrtaceae	Goiabeira	Folhas	Inflamações da boca, desordens intestinais
<i>Bryophyllum calycinum</i> Salisb	Crassulaceae	Pirarucu, Folha da fortuna	Folhas	Analgésica, antimicrobiana, antidiabética,
<i>Eleutherine plicata</i> Herb	Iridaceae	Marupazinho, Marupá, Marupaí	Bulbo	Diarréias e amebíases
<i>Uncaria guianensis</i> (Aubl.) Gmelin	Rubiaceae	Unha-de-gato	Folhas	Gastrite, úlcera, diarreia, artrite
<i>Arrabidaea chica</i> (HKB) Verlot	Bignoniaceae	pariri, crajiru, cipó-cruz	Folhas	Antiinflamatório, agente adstringente, anemia
<i>Mansoa alliacea</i> (Lam.) A.H. Gentry	Bignoniaceae	Cipó d'alho, cipó-alho	Folhas	Anti-reumáticos, antiartríticos, resfriados

### Determinação da concentração inibitória mínima:

Os extratos testados que apresentaram atividade antimicrobiana na avaliação preliminar foram submetidos à determinação da CIM pela técnica de microdiluição em caldo (CLSI 2003b; BERTINI et al 2005; LIMA et al 2006; SANTOS et al 2007).

Os testes foram realizados em caldo Muller Hinton contidos em placa "Sensitive microtiter" de 96 poços, esterilizada, e utilizadas em análises de ELISA. Uma alíquota de 10 µL de cada extrato nas concentrações de 500, 250, 125, 62,5, 31,25 e 15,63 mg/mL foi depositada em cada poço da placa contendo caldo Muller Hinton e suspensão de microrganismos para um volume final de 200 µL em cada poço. Foi realizado controle do extrato, do caldo Muller Hinton, das suspensões de microrganismos, de cloranfenicol e de nistatina.

As placas foram cobertas com parafilme e incubadas a 35°C por 24 horas. A leitura foi realizada em leitor de ELISA no comprimento de onda de 650 nm (LIMA et al 2006). Foi considerada como CIM a menor concentração do extrato capaz de inibir o crescimento microbiano.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Não existe um consenso sobre o nível aceitável para extratos de plantas quando comparados com antibióticos padrões. Alguns autores consideram somente resultados similares aos de antibióticos conhecidos, desde que se trabalhe com uma fração já determinada (ALIGIANIS et al., 2001). Entretanto, como trabalhamos com extrato bruto das plantas, seguimos o critério sugerido por HOLETZ et al., (2002) (Tabela 2). A maior concentração de extrato empregada no presente trabalho, foi de 500 mg/mL, uma vez que em concentrações mais altas, as soluções dos extratos não permitiram uma absorção total nos discos, além da intensa coloração que prejudicava a leitura dos resultados. Para HOLETZ et al., (2002) extratos vegetais que apresentam atividade antimicrobiana em concentrações acima de 500 mg/mL possuem fraca atividade, sendo de difícil aproveitamento farmacêutico no tratamento de infecções bacterianas ou fúngicas.

Apenas o extrato de *Mansoa alliacea* (Lam.) A.H. Gentry (cipó d'álho) não apresentou atividade contra nenhum dos organismos testados (Tabela 1), não justificando, portanto, sua utilização no tratamento de doenças infecciosas causadas por estes microrganismos (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* e *C. albicans*).

Na verificação preliminar da atividade antimicrobiana das folhas de *Psidium guajava* L. (goiabeira) (Tabela 3) foi observada atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *P. aeruginosa* e antifúngica frente a *C. albicans*. Na determinação da concentração inibitória mínima, o EEB de goiabeira foi ativo até a concentração de 125 mg/mL frente aos microrganismos testados (Tabela 2). Embora o extrato de goiabeira possa ter apresentado CIM na mesma concentração contra todos os microrganismos testados, os halos formados nos testes de difusão contra *C. albicans* foram maiores, sugerindo uma melhor ação contra fungos. O extrato de *P. guajava* foi relatado com atividade antimicrobiana para *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* e *C. albicans* por HOLETZ et al 2002 e por GNAN & DEMELLO, 1999. Já os resultados de GONÇALVES et al 2005 constataram ação contra *Streptococcus pyogenes*, *Proteus mirabilis* e *S. aureus*, não constando ação frente à *E. coli* e *P. aeruginosa*. A atividade contra *C. albicans* foi relatada também por PESSINI (2003), ALVES et al. (2006) e NAIR & CHANDA (2007), enquanto que MARTINEZ et al (1997) não encontraram esta atividade em amostras de Cuba.

Na verificação preliminar da atividade antimicrobiana o extrato de *Bryophyllum calycinum* Salisb apresentou atividade contra *S. aureus* e *P. aeruginosa*, entretanto, não revelou atividade contra a bactéria Gram-negativa *E. coli* e contra o fungo leveduriforme *Candida albicans*. (Tabela 3).

Quando realizada a determinação da concentração inibitória mínima, o extrato de pirarucu foi ativo até a concentração de 250 mg/mL frente a *P. aeruginosa* e 500 mg/mL contra *S. aureus* (Tabela 3).

Na verificação preliminar da atividade antimicrobiana o extrato de *Eleutherine plicata* Herb (marupazinho) apresentou atividade contra *S. aureus* e *C. albicans*. (Tabela 3). O marupazinho mostrou melhor atividade contra a bactéria Gram-positiva *S. aureus* com CIM de 62,5 mg/mL, já o CIM contra *C. albicans* foi de 250 mg/mL (Tabela 2).

**Tabela 2.** Critérios para aceitação da atividade antimicrobiana de extratos brutos e plantas (HOLETZ et al., 2002).

CIM DO EXTRATO BRUTO	RESULTADO
Abaixo de 100 mg/mL	Boa atividade antimicrobiana
Entre 100 e 500 mg/mL	Moderada atividade antimicrobiana
Entre 500 e 1000 mg/mL	Fraca atividade antimicrobiana
Acima de 1000 mg/mL	Inativo

Na verificação preliminar da atividade antimicrobiana do extrato de *Uncaria guianensis* (Aubl.) Gmelin (unha-de-gato) foi observada atividade antibacteriana apenas contra *S. aureus* (Tabela 3) apresentando um CIM de 62,6mg/ml (Tabela 4).

Já o extrato etanólico bruto de *Arrabidaea chica* (HKB) Verlot (pariri) apresentou atividade antibacteriana contra *S. aureus* e *coli*, e antifúngica frente à leve-

mente *C. albicans*. (Tabela 3). Com CIM de 62,5 para *S. aureus*, de 250mg/ml para *E. coli* e de 500mg/ml para *C. albicans*.

Considerando os critérios sugeridos por HOLETZ et al (2002) os melhores resultados obtidos foram contra *S. aureus*, para *Eleutherine plicata*, *Uncaria guianensis* e *Arrabidaea chica* representando um CIM abaixo de 100 mg/ml (62,5mg/ml).

**Tabela 3.** Avaliação preliminar da atividade antimicrobiana dos extratos etanólicos brutos de *Psidium guajava* (goiabeira), *Bryophyllum calycinum* (pirarucu), *Eleutherine plicata* (marupazinho), *Uncaria guianensis* (unha de gato), *Arrabidaea chica* (pariri) e *Mansoa alliacea* (cipó d'alho) através da técnica de disco difusão em ágar.

Espécie Vegetal	Microorganismo	Atividade antimicrobiana	Halo (mm)
Psidium guajava	S. aureus	+	(12mm)
	E. coli	-	-
	P. aeruginosa	+	(11 mm)
	C. albicans	+	(17 mm)
Bryophyllum calycinum	S. aureus	+	(11 mm)
	E. coli	-	-
	P. aeruginosa	+	(14 mm)
	C. albicans	-	-
Eleutherine plicata	S. aureus	+	(19 mm)
	E. coli	-	-
	P. aeruginosa	-	-
	C. albicans	+	(12 mm)
Uncaria guianensis	S. aureus	+	(12 mm)
	E. coli	-	-
	P. aeruginosa	-	-
	C. albicans	-	-
Arrabidaea chica	S. aureus	+	(14 mm)
	E. coli	+	(10mm)
	P. aeruginosa	-	-
	C. albicans	+	(10 mm)

**Tabela 4.** Determinação da concentração inibitória mínima (CIM) em mg/mL dos extratos etanólicos brutos de *Psidium guajava*, *Bryophyllum calycinum*, *Eleutherine plicata*, *Uncaria guianensis* e *Arrabidaea chica* através da técnica de microdiluição em caldo.

Espécie Vegetal	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Psidium guajava	125mg/mL	-	125mg/mL	125mg/mL
Bryophyllum calycinum	500mg/mL	-	250mg/mL	-
Eleutherine plicata	62,5mg/mL	-	-	250mg/mL
Uncaria guianensis	62,5mg/mL	-	-	-
Arrabidaea chica	62,5mg/mL	250mg/mL	-	500mg/mL



## CONCLUSÃO

Neste estudo, observaram-se plantas com atividade antimicrobiana *in vitro* comprovada (goiabeira, unha-de-gato, pirarucu, marupazinho e pariri). Embora os resultados obtidos fundamentem o uso destas plantas como antimicrobiano na terapêutica popular, não é recomendada, sem estudos mais avançados, a sua utilização no tratamento de infecções severas.

Estes resultados apresentam uma expressiva contribuição para a caracterização da atividade antimicrobiana das plantas utilizados na medicina popular da Amazônia, colaborando com a busca por novas substâncias, a partir de fontes naturais, que ajudem a combater a expansão da resistência microbiana.

Sugere-se a continuação de estudos contra microrganismos multiresistentes isolados de processos clínicos e a ação em menores concentrações associados com antibióticos, para observar o possível efeito sinérgico dessa associação.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDELRAHIM, S.I.; ALMAGBOUL, A.Z.; OMER, M.E.A.; ELEGAMI, A. Antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. *Fitoterapia* 73: 713-715, 2002.
- ALIGIANIS, N.; KALPOUTZAKIS, E.; MITAKU, S.; CHINO, I.B. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of two *Origanum* species. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4168-4170. 2001.
- ALVES, P.M.; LEITE, P.H.A.S.; PEREIRA, J.V.; PEREIRA, L.F.; PEREIRA, M.S.V.; HIGINO, J.S.; LIMA, E.O. *et al.* Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn (goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação *in vitro*. *Rev. Bras Farmacogn* 16(2): 192-196, 2006.
- BARBOSA, W.L.R.; QUINARD, E.; TAVARES, I.C.C.; PINTO, L.N.; OLIVEIRA, F.Q.; OLIVEIRA, R.M. *Manual para Análise Fitoquímica e Cromatográfica de Extratos Vegetais*. 2ª. Edição revisada. Revista Científica da UFPA <http://www.ufpa.br/rcientifica> Vol. 4, 2004.
- BARBOSA, W.L.R.; PINTO, A.P. *Levantamento Etnofarmacêutico da Fitoterapia Tradicional de Igarapé-Miri*, IN: VII Reunião da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, 2001, MANAUS – AM. CD-ROM VII SBPC. MANAUS: SBPC, 2001.
- BAUER, A.W.; KIRBY, W.M.M.; SHERRIS, J.C.; TURCK, M. Antibiotic susceptibilities testing by standard single disc diffusion method. *American Journal of Clinical Pathology*, v.45, p.493-496, 1966.
- BERTINI, L.M.; PEREIRA, F.A.; OLIVEIRA, C.L.L.; MENEZES, E.A.; MORAIS, S.M.; CUHA, F.A.; CAVALCANTI, E. Perfil de sensibilidade de bactérias frente a óleos essenciais de algumas plantas do nordeste do Brasil. *Infarma*, 17(3/4):80-83, 2005.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition. CLSI document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. CLSI. 2003a.
- CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Eighth Edition. CLSI document M7-A6 [ISBN 1-56238-486-4]. CLSI. 2003b.
- COWAN, M.M. Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12: 564-582. 1999.
- DRUMOND, M.R.S.; CASTRO, R.D.; ALMEIDA, R.V.D.; PEREIRA, M.S.V.; PADILHA, W.W.N. Estudo comparativo *in vitro* da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr*, 4(1): 33-38, 2004. GNAN, S.O. & DEMELLO, M.T. Inhibition of *Staphylococcus aureus* by aqueous goiaba extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 68: 103-108, 1999.
- GONÇALVES, A.L.; ALVES FILHO, A.; MENEZES, H. Estudo Comparativo da Atividade Antimicrobiana de Extratos de Algumas Árvores Nativas. *Arq. Inst. Biol.* 72(3): 353-358, 2005.
- HOLETZ, F.B.; PESSINI, G.L.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; NAKAMURA, C.V.; DIAS FILHO, B.P. Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(7): 1027-1031, 2002.
- LIMA, M.R.F.; LUNA, J.S.; SANTOS, A.F.; ANDRADE, M.C.; SANTANA, A.E.; GENET, J.P.; MARQUEZ, B.; NEUVILLE, L.; MOREAU, N. Anti-bacterial activity of some Brazilian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 105: 137-147, 2006.
- MACIEL, M.A.M.; PINTO, A.C.; VEIGA, V.F.Jr.; GRYNBERG, N.F.; ECHEVARRIA, A. Plantas medicinais: A necessidade de estudos multidisciplinares. *Química Nova*. 25: 429-438, 2002.
- MARTINEZ, M.J.; MOLINA, N.; BOUCOUR, E. Evaluacion de la actividad antimicrobiana del *Psidium guajava* L. *Rev. Cubana del Plant Med* 2(1): 12-14, 1997.(1997).
- NAIR, R.; CHANDA, S. *In vitro* antimicrobial activity of *Psidium guajava* L. leaf extracts against clinically important pathogenic microbial strains. *Braz J Microbiol*, 38(3): 2007.
- PAREKH, J.; CHANDA, S.V. *In vitro* antimicrobial activity and phytochemical analysis of some Indian medicinal plants. *Turk J. Biol.* 31: 53-58. 2007.
- PESSINI, G.L.; HOLETZ, F.B.; SANCHES, N.R.; CORTEZ, D.A.G.; DIAS-FILHO, B.P.; NAKAMURA, C.V. Avaliação da atividade antibacteriana e antifúngica de extratos de plantas utilizados na medicina popular. *Rev Bras Farmacogn* 13(Supl. 1): 21-24, 2003.
- PRASHAR, A. HILI, P.; VENESS, R. G.; EVANS, C. S. Antimicrobial action of palmarosa oil (*Cymbopogon martinii*) on *Saccharomyces cerevisiae*. *Phytochemistry*. 63: 569-575. 2003.
- ROBERTS, J.L.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. *Farmacognózia e Farmacobiocologia*. São Paulo: Editorial Premier, 1997.
- SANTOS, S.C.; FERREIRA, F.S.; ROSSI-ALVA, J.C.; FERNANDEZ, L.G. Atividade antimicrobiana *in vitro* do extrato de *Abarema cochiliocarpus* (Gomes) Barnaby & Grimes. *Revista Brasileira de Farmacognózia*, 17(2): 215-219. 2007.

# AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE COMPRIMIDOS E CÁPSULAS MANIPULADAS DE NIFEDIPINO COM LIBERAÇÃO RETARDADA.

INGRID KOWALSKI <sup>1</sup>  
GIANE MÁRCIA CORRÊA <sup>2</sup>

1. Acadêmica do Curso de Farmácia Habilitação Farmacêutico Industrial em Medicamentos da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, UNIJUÍ.
2. Mestre em Ciências Farmacêuticas, docente do Curso de Farmácia da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, UNIJUÍ.

Autor responsável: I. Kowalski.  
E-mail: ingridkowalski@ibest.com.br

## INTRODUÇÃO

O Controle da Qualidade é o processo regulador através do qual a indústria mede o desempenho de qualidade real, compara-o com padrões estabelecidos e atua sobre as diferenças (ANSEL, 2000).

Para as Indústrias está em vigência a RDC 210/2003 a qual estabelece as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Diz esta, que a responsabilidade pela qualidade dos produtos farmacêuticos é do fabricante, que deverá assegurar a confiabilidade dos mesmos com relação aos fins para os quais tenham sido produzidos, não colocando os pacientes em risco, em função de sua inadequabilidade em termos de segurança, qualidade ou eficácia. A produção de medicamentos de alta qualidade e a conservação desta, durante todo o processo de comercialização, interessa tanto aos fabricantes, quanto aos consumidores (BRASIL a, 2003).

Já para as farmácias de manipulação vigora a RDC 67/2007 a qual preconiza as Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para uso Humano em Farmácia. Tendo por objetivo principal garantir a qualidade, segurança, efetividade e promoção do uso seguro e racional das preparações.

Os medicamentos administrados por via oral em forma seca, cápsulas e comprimidos, são os usados com maior frequência. São eficientes e proporcionam facilidade de manipulação, identificação e administração para o paciente (ANSEL, 2000).

Para muitas enfermidades, o regime terapêutico ideal é aquele em que a concentração terapêutica do fármaco requerida é atingida de modo imediato no local de ação, e depois é mantida constante durante o tempo previsto para o tratamento. No entanto, existem muitos casos em que há necessidade de fazer uso de sistemas de liberação

modificados, visando eliminar ou reduzir as concentrações plasmáticas cíclicas observadas após a administração de sistemas de liberação convencionais de fármacos em pacientes, de acordo com um regime terapêutico especificado (AUTON, 2005).

A aplicação de revestimento a comprimidos e cápsulas baseia-se normalmente em: mascarar sabor, cheiro ou a cor de algum fármaco; conferir uma proteção física ou química ao fármaco; controlar a liberação do fármaco; proteger o fármaco no estômago do seu meio com um revestimento entérico gastro-resistente; entre outros (LACHAMAN, 2001).

O revestimento entérico é caracterizado por tolerar bem o pH ácido do estômago e por desintegrar-se rapidamente no pH intestinal. Esta forma de revestimento tem sido muito empregada, normalmente às formas farmacêuticas comprimidos, granulados e cápsulas (FERREIRA, 2006).

Há vários tipos de revestimentos utilizados e a cada dia novas formas são pesquisadas e testadas. Para assim, conseguir um revestimento com mais qualidade, segurança, boa aparência e aceitação. Revestimentos esses que devem atender a certos critérios para posterior utilização e dispensação (LACHMAN, 2001).

As formas farmacêuticas gastro-resistentes também conhecidas por enterossolúveis ou de liberação retardada, são aquelas que devem resistir sem alterações, a ação do suco gástrico, ou seja, impedir o ataque do medicamento pelo suco gástrico durante a permanência no estômago, que em alguns casos pode ser de até mais de duas horas, e somente desagregar-se no suco intestinal (FERREIRA, 2000; PRISTA, 1995). Entre alguns dos materiais usados nos revestimentos entéricos encontram-se goma laca, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose, acetoftalato de polivinil, acetoftalato de celulose, e em proporções menores o formaldeído.

## Goma Laca

A goma laca encontra-se disponível na forma de flocos ou pó insípido com leve odor ou inodoro. Quando utilizada para fins farmacêuticos deve ser purificada ou alvejada. Devido a sua origem natural, a goma laca constitui um material de revestimento entérico adequado para fitofármacos e aditivos alimentares, onde muitas vezes o uso de polímeros sintéticos é incompatível com a imagem do produto. A natureza dos componentes da goma condiciona a sua solubilidade em pH alcalino (FERREIRA, 2006).

A goma laca como revestimento entérico não é sempre segura, podendo originar perturbações intestinais ao se transformar em resinatos alcalinos. Por outro lado, como a sua desintegração só ocorre quando há uma apreciável alcalinidade no meio, podendo vir a dissolver-se somente na porção terminal do jejuno, pode prejudicar, eventualmente, a absorção do fármaco (PRISTA, 1995). A adição de aditivos hidrofílicos, como o ácido sórbico, que atua como um plastificante, tem demonstrado reduzir a temperatura de transição vítrea dos filmes da goma, diminuindo efetivamente os tempos de desintegração simulados em tampão fosfato pH 6,8, enquanto o comportamento em HCl 0,1 N permaneceu inalterado (FERREIRA, 2006).

## Ftalato de Hidroxipropilmetilcelulose

Outros três polímeros gastro-resistentes foram desenvolvidos através da esterificação do ftalato de hidroxipropilmetilcelulose NF com anidro ftálico, e são comercializados como HPMCP 50, 55 e 55S, também conhecidos como HP-50, HP-55 e HP-55S. Estes polímeros dissolvem-se para valores de pH mais baixos, entre 5 e 5,5. Para as preparações gastro-resistentes recomenda-se a HP-55 (LACHMAN, 2001).

## Acetoftalato de Polivinil

O PVAP é fabricado por esterificação do acetato de polivinilo parcialmente hidrolisado. Este polímero é idêntico a HP-55 quanto à estabilidade dependendo a sua solubilidade do pH. É fornecido como sistema gastro-resistente pronto a usar ou pronto a dispersar (LACHMAN, 2001; WADE & WELLER, 1994).

## Acetoftalato de Celulose

O acetoftalato de celulose (CAP) tem sido bastante usado na indústria. Tem a desvantagem de dissolver unicamente em pH 6 e de retardar a absorção dos fármacos. Também é higroscópico e relativamente permeável a unidade e aos meios gástricos em comparação com outros polímeros entéricos. Os filmes de acetoftalato de celulose são quebradiços, normalmente formulados com materiais

que promovam a formação do filme de natureza hidrofóbica ou de adjuvantes para alcançar um melhor filme gastro-resistente (LACHMAN, 2001; WADE & WELLER, 1994).

## Formaldeído

Outro método utilizado para tornar cápsulas gastro-resistentes é a utilização de substâncias desnaturantes como o formaldeído, sais de ferro e de cromo.

A princípio se utilizava as soluções de formaldeído bastante concentradas, mas foi observado que esta técnica originava um endurecimento imediato dos invólucros gelatinosos, como conseqüência os respectivos tempos de desintegração eram inconstantes e, por vezes, bastante elevados o que *in vivo* poderia significar uma não desintegração das cápsulas a nível entérico afetando a biodisponibilidade e eficácia do fármaco veiculado. Por este motivo, recomenda-se a utilização de soluções de formol menos concentradas, na forma de soluções alcoólicas contendo de 1 a 5% de formaldeído (PRISTA, 1995).

O nifedipino pertence a um grupo de substâncias conhecidas como bloqueadores de canal de cálcio, ou seja, inibem a entrada de cálcio para o interior das células estriadas cardíacas e lisas das coronárias e redes arteriais sistêmicas. Atua principalmente como vasodilatador, diminuindo a resistência à passagem do sangue. Assim, o sangue corre mais livre pelas veias e artérias, e isso faz diminuir a pressão. O tratamento da pressão alta diminui o risco de ocorrerem complicações no coração, no cérebro e nos vasos sanguíneos. O nifedipino, conforme Figura 1, serve também para tratar a dor no peito, conhecida como angina do peito da doença coronária, porque essa substância ativa faz com que chegue mais sangue ao coração (HARVEY, 1998).

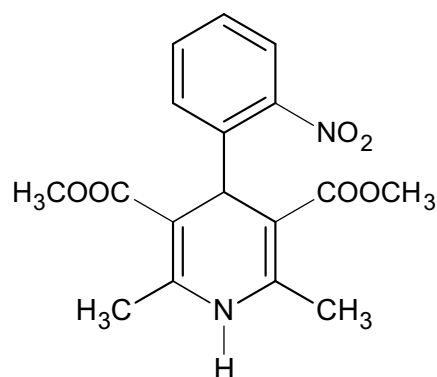


Figura 1. Estrutura química do nifedipino.

Fonte: Farmacopéia Brasileira IV, 1996.

O tratamento com esse medicamento deve, na medida do possível, ser individualizado levando em consideração a intensidade da doença e a resposta do paciente. De-

pendendo de cada caso, as doses devem ser introduzidas gradualmente. No caso de disfunção hepática, deve-se ter cautela nas administrações, podendo até ter uma redução na dosagem (ACHÉ, 2004).

O objetivo principal desse trabalho foi avaliar a qualidade nos comprimidos de referência, similar e cápsulas manipuladas do fármaco nifedipino 20mg, liberação retardada. Cabe salientar que as cápsulas manipuladas são também designadas de medicamento similar. Esse estudo visou determinar se realmente esses medicamentos não desintegrariam em pH ácido, ou seja, no estômago como determina a literatura. Ainda, verificar a existência ou não de diferenças entre as apresentações analisadas.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisados comprimidos e cápsulas manipuladas de nifedipino 20mg, de liberação retardada. O medicamento similar (cápsulas) utilizado nesse trabalho foi manipulado e revestido com formaldeído a 2%, em Farmácia Magistral, as outras duas amostras, comprimidos de referência e similar foram adquiridas em uma farmácia comercial.

Procedeu-se uma ampla revisão bibliográfica sobre o revestimento de comprimidos e cápsulas de liberação retardada. Em seguida realizou-se um estudo experimental para avaliar a qualidade desses medicamentos. As amostras foram assim denominadas: amostra R (comprimidos de referência), amostra S (comprimidos similar) e amostra M (cápsulas manipuladas).

### Curva de calibração

Linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais a concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Recomenda-se que a linearidade seja determinada pela análise de, no mínimo, cinco concentrações diferentes (BRASIL b, 2003).

Para elaborar a curva de calibração, pesou-se exatamente, 0,01 g de nifedipino matéria prima adquirida da distribuidora Galena com lote nº0608040701, transferiu-se para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com metanol. A seguir, retiraram-se alíquotas de 4,0; 8,0; 12; 16; e 20 mL, respectivamente, que foram diluídas em balões volumétricos de 50 mL, obtendo-se concentrações 8,0; 16; 20; 24 e 28 µg/mL.

A leitura das absorvâncias das amostras foi realizada por espectrofotometria na região do ultravioleta. O procedimento foi realizado em triplicata. Os dados obtidos foram analisados no Excel 7.0, sendo que o valor obtido com a curva, quanto mais próximo de 1, maior a probabilidade de existir uma relação linear definida entre as variáveis X (concentração) e Y (absorvância) (VIEIRA, 1989; VOGEL, 1992).

Tanto a técnica de doseamento quanto a curva de calibração foram realizadas nas condições conforme descreve a Tabela 1.

**Tabela 1.** Condições experimentais utilizadas para a execução do método por espectrofotometria na região do Ultra-Violeta.

Características	Descrição
Diluyente	Metanol
Cubeta	Quartzo com 1 cm de percurso ótico
Comprimento de onda	350 nm

### Peso Médio

Foram pesados, individualmente, 20 comprimidos e cápsulas de cada amostra em balança analítica (OHAUS modelo AS200S). Após determinação dos pesos individuais foram calculados o peso médio, o desvio padrão, o coeficiente de variação, o limite inferior e o limite superior de confiança. Os resultados obtidos foram comparados às especificações da Farmacopéia Brasileira IV (1988), conforme descrito na Tabela 2.

**Tabela 2.** Limite de variação de peso em formas farmacêuticas

Forma farmacêutica	Peso médio ou valor nominal declarado	Limite de variação
Cápsulas gelatinosas Duras	Até 300mg Acima de 300mg	± 10% ± 7,5%
Comprimidos Revestidos	Até 25 mg Entre 25 e 150mg Entre 150 e 300mg Acima de 300mg	± 15% ± 10% ± 7,5% ± 5,0%

Fonte: FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988.

### Teste Tempo de Desintegração para Formas de Liberação Entérica

O teste tempo de desintegração foi realizado em um desintegrador (Nova Ética modelo 301 AC) conforme descrito na Farmacopéia Brasileira IV (1988). Durante o teste os comprimidos e cápsulas são colocados individualmente em cada um dos seis tubos da cesta e, com um dispositivo mecânico, a cesta é suspensa e mergulhada no líquido de imersão apropriado, com frequência entre 29 e 32 ciclos por minuto.

A Farmacopéia Brasileira IV (1988) estabelece que comprimidos e cápsulas de liberação entérica não devem se desintegrar, após 60 minutos de teste em HCl 0,1M, a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , e devem se desintegrar totalmente na solução de tampão fosfato, pH 6,8, findo o tempo estabelecido na monografia, ou 45 minutos.

### Doseamento

O doseamento consiste em comparar as absorvâncias de soluções de referência e das amostras, preparadas nas concentrações especificadas nas monografias, em condições experimentais idênticas.

A técnica de doseamento utilizada será por Espectrofotometria de Absorção na região do ultravioleta, conforme descrito na Farmacopéia Brasileira IV (1996).

De acordo com a Farmacopéia Brasileira IV (1996), as cápsulas de nifedipino devem conter no mínimo 90% e, no máximo, 110% da quantidade indicada de  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$ . Para os comprimidos, mantêm-se os valores supracitados de acordo com a USP 29 (2006).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva de calibração é muitas vezes considerada como uma maneira de estabelecer a exatidão de um sistema de medição, ou seja, o grau de concordância entre o resultado de uma medição e um valor verdadeiro convencional do mensurando (MODELAGEM, 2003).

Na obtenção da curva de calibração foram utilizadas cinco concentrações de nifedipino (Galena) e suas respectivas absorvâncias, como mostra a Figura 2. O coeficiente de correlação obteve valor igual a 0,9954, indicando a linearidade do método pois está próximo de 1 como exige a monografia.

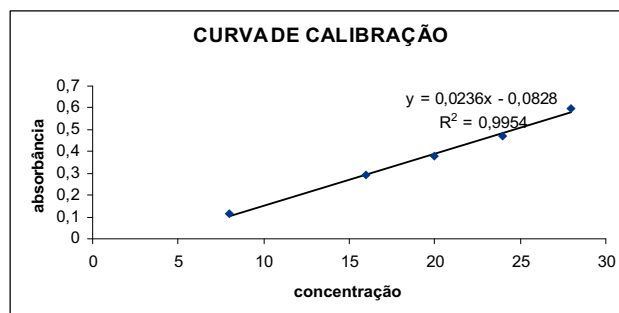


Figura 2. Representação gráfica da curva de calibração do nifedipino obtida através do método espectrofotométrico na região do ultravioleta.

Os resultados de peso médio (Tabela 3) indicam que os comprimidos e cápsulas das três amostras cumpriram com as especificações propostas pela Farmacopéia Brasileira IV (1988). Dentre as amostras estudadas, as cápsulas (amostra M) apresentaram o maior coeficiente de variação, 2,77%; as amostras R e S, 1,31% e 2,5%, respectivamente.

Na Tabela 4, pode-se verificar que em relação ao tempo de desintegração, tratando-se do meio ácido, a amostra S foi a única que cumpriu com as especificações preconizadas pela Farmacopéia Brasileira IV (1988), sendo que as amostras R e M desintegraram em menos de 10 minutos. Em meio básico, os resultados das três amostras mantiveram-se, com isto, a amostra S deixa de cumprir as especificações do compêndio oficial supracitado.

Testes realizados por outros autores em comprimidos retard, também apontam divergências com os resultados obtidos

Tabela 3. Resultados do peso médio, desvio padrão, CV%, LS e LI dos comprimidos e cápsulas manipuladas de nifedipino de liberação retardada 20 mg.

	Referência (R)	Similar (S)	Manipulado (M)
Média	0,0917	0,1716	0,1602
DP	0,0012	0,0043	0,0044
CV %	1,31	2,5	2,77
LS	0,1054	0,1968	0,1762
LI	0,0779	0,1458	0,1441

Legenda: DP – desvio padrão; CV% – coeficiente de variação; LS – limite superior; LI – limite inferior.

De acordo com Barroso (2007), a qual avaliou a capacidade de gastroresistência de comprimidos revestidos de diclofenaco de sódio 50mg, no teste tempo de desintegração, segundo a USP 23/ NF 18, onde foram analisadas cinco amostras de diferentes fabricantes, quando submetidas ao fluido gástrico simulado, não houve sinal de desintegração durante o período estipulado, o que provou a resistência gástrica dos comprimidos. Já, os mesmos comprimidos quando submetidos ao fluido intestinal, das cinco amostras analisadas, três, não se desintegraram no tempo preconizado, e, portanto, não passaram no teste de qualidade, pois também indicam que provavelmente não atingiriam os efeitos terapêuticos desejados.

Porém Ferreira (2006) obteve resultados satisfatórios ao produzir cápsulas retard de diclofenaco de sódio, previamente seladas com solução alcoólica a 50 % e revestidas com uma solução orgânica contendo acetoaftalato de celulose ou com Eudragit L 100. Ele conclui a viabilidade da obtenção magistral de cápsulas de liberação entérica com relativa estabilidade, no entanto é imprescindível a verificação da qualidade das mesmas através da realização do teste de desintegração e/ou do teste de dissolução para confirmar sua estabilidade.

**Tabela 4.** Resultados obtidos na desintegração de comprimidos e cápsulas manipuladas nas apresentações de referência e similar.

Meio	Referência (R)	Similar (S)	Manipulado (M)
Ácido	D	ND	D
Básico	D	ND	D

Legenda: D – Desintegrou; ND – Não Desintegrou.

Na técnica de doseamento, conforme os resultados apresentados na Tabela 5, a amostra R cumpriu com as especificações da literatura. As amostras S e M não cumpriram com as exigências estabelecidas na monografia oficial do fármaco.

**Tabela 5.** Resultados obtidos na determinação do teor de princípio ativo, através da espectrofotometria na região do ultravioleta.

Referência (R)	Similar (R)	Manipulado (M)
101,85 %	113 %	127,5 %

Observação: o teste foi realizado em triplicata.

## CONCLUSÃO

Este trabalho de pesquisa teve como objetivo avaliar a qualidade de comprimidos e cápsulas manipuladas de nifedipino 20 mg, retard adquiridos em farmácias de Santo Ângelo e Ijuí, através da realização dos testes de peso médio, tempo de desintegração e teor do princípio ativo, verificando a conformidade do medicamento com as especificações farmacopeicas, procurando detectar desvios quanto à qualidade, segurança e eficácia.

A Curva de Calibração demonstrou que existe uma correlação entre concentração e absorvância, sendo o método linear.

Em relação ao teste de peso médio, observa-se que as três amostras tiveram resultados satisfatórios estando em conformidade com a Farmacopéia Brasileira IV.

No ensaio tempo de desintegração de comprimidos e cápsulas manipuladas, nenhum resultado esteve de acordo com o preconizado com a Farmacopéia Brasileira IV. Para serem considerados medicamentos retard, os mesmos não devem desintegrar-se em meio ácido (meio estomacal) e a desintegração deve ocorrer em meio básico (intestinal). Ocorreu a desintegração das amostras R e M no meio ácido, isto significa que desintegrariam no estômago, o que não é desejado, pois, o objetivo do revestimento é para que a desintegração ocorra no intestino. A amostra S não desintegrou no meio ácido o que seria desejável, no entanto, a mesma igualmente não desintegrou no meio básico. Isso indica que essa amostra passou intacta no trato gastro intestinal, não liberando o princípio ativo, conseqüentemente o medicamento não atingiria o efeito terapêutico desejado.

Os resultados obtidos no doseamento do teor de princípio ativo demonstraram que somente a amostra R foi aprovada, com um teor de 101,85 %, estando de acordo com as especificações da monografia do fármaco que permite uma variação de 90 a 110 %.

Verifica-se a importância das indústrias e farmácias magistrais de realizarem o controle de qualidade para detectarem possíveis não conformidades nos medicamentos. Dessa forma, cabe ressaltar a importância desses estabelecimentos seguirem as exigências conforme as Boas Práticas de Fabricação Medicamentos (RDC 210/03) e Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficinais para uso Humano em Farmácia (RDC 67/07).

Os medicamentos devem ser utilizados somente quando estão dentro das especificações estabelecidas por compêndios oficiais, devem ser seguros e não podem colocar em risco a vida do paciente. Ainda, tem que ter eficácia e o efeito terapêutico preconizado.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACHÉ. **P.R Vade-Mécum**. Ed Especial 2004/05. São Paulo: Soriak Comércio e Produções S.A, 2004.
2. ANSEL, H. C.; POPIVICH, N.G.; ALLEN Jr. L. V. **Farmacotécnica: Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 6. ed. São Paulo: Premier, 2000. p.175-250.
3. AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p.299-313.
4. BARROSO, P.O.; GONÇALVES. D. L.; SILVA, E. M.; LOPES, MICHELLE, L. S. L. Verificação da Capacidade de gastroresistência de cápsulas revestidas de diclofenaco de sódio industrializados. Revista Científica da FARMINAS –Muriaré – v. 3, n.1, sup.1, jan-abr. 2007. p.87
5. BRASIL a. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC 210, de 04 de fevereiro de 2003. Boas Práticas para Fabricação de Medicamentos. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=22321&word=>. Acesso em: mai. 2008
6. BRASIL b. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE 899, de 29 de maio de 2003. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. Disponível em: [http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&mode=PRINT\\_VER\\_SION](http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&mode=PRINT_VER_SION). Acesso em: jun. 2008.
7. BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RDC 67, de 08 de outubro 2007. Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para uso Humano em Farmácia. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=28806&word=>. Acesso em: mai. 2008.
8. FARMACOPÉIA Brasileira. 4. ed. Parte I. São Paulo: Atheneu, 1988.
9. FARMACOPÉIA Brasileira. 4. ed. Parte II. São Paulo: Atheneu, 1996.
10. FERREIRA, Anderson O. **Guia Prático da Farmácia Magistral**. Juiz de Fora, 2000.
11. FERREIRA, Anderson O. **Desenvolvimento Magistral de Cápsulas Gelatinosas Duras de Liberação Entérica**. 2006. 163f. Dissertação de Mestrado (Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro.
12. HARVEY, Richard A.; CHAMPE, Pamela C. **Farmacologia Ilustrada**. 2. ed. Porto Alegre: Artemed Editora, 1998.
13. LACHAMAN, L.; LIEBERMANN, H. A.; KANIG, J. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Vol. I e II. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. p.599-648.
14. MODELAGEM da Curva de Calibração. PUC – Rio de Janeiro, 2003. Disponível em: [http://www.maxwell.lambda.ele.puc-rio.br/cgi-in/PRG\\_0599.EXE/4058\\_4.PDF?NrOcoSis=8458&CdLinPrg=pt](http://www.maxwell.lambda.ele.puc-rio.br/cgi-in/PRG_0599.EXE/4058_4.PDF?NrOcoSis=8458&CdLinPrg=pt). Acesso em: 15 jan. 2008.
15. PRISTA, Nogueira; ALVES, Correia. A.; MORGANO, Rui. **Tecnologia Farmacêutica**. 5 ed. I Vol. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1995. p.2025-2053.
16. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. The National Formulary, USP 29 NF 24. Philadelphia: National Publishing, 2006.
17. VIEIRA. S; HOFFMANN. R. **Estatística Experimental**. São Paulo: Atlas. 1989. 179p.
18. VOGEL, A. I. **Análise Química Quantitativa**. 5. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1992. 712p.
19. WADE, A; WELLER, P. J. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 2. ed. American Pharmaceutical Association. 1994, 651p.

# ESTRATÉGIAS DE ENSINO EM FARMÁCIA. INTEGRAÇÃO DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO E ANÁLISE DA QUALIDADE.

IARA LÚCIA TESCAROLLO DIAS <sup>1</sup>  
SILVIA ELISA ACEDO MENIN <sup>1</sup>  
MÁRCIO CARDOSO PINTO <sup>1</sup>  
HELIDA B. SOUZA <sup>2</sup>  
JESSICA D. B. PINTO <sup>2</sup>  
VAGNER R. SANT'ANA <sup>2</sup>

1. Docente do Curso de Farmácia, Universidade São Francisco, Av. São Francisco de Assis, 218, Jardim São José, 12.916-900, Bragança Paulista, São Paulo
2. Estagiário, Laboratório Farmácia-Indústria, Curso de Farmácia, USF

Autor Responsável: I. L. Tescarollo Dias.  
E-mail: iaratescarollo@terra.com.br

## INTRODUÇÃO

A farmacotécnica constitui uma das disciplinas profissionalizantes do curso de farmácia e envolve conteúdo multidisciplinar, cujo objetivo fundamenta-se na abordagem dos princípios tecnológicos subjacentes ao preparo das formas farmacêuticas, estudo dos sistemas de liberação de fármacos, compreensão das inter-relações dos princípios físicos e farmacêuticos, da biofarmácia e farmacocinética, das formas farmacêuticas, da formulação dos produtos e da fabricação em pequena e grande escala e da aplicação clínica dos fármacos no tratamento do paciente (GENARO, 2004; AUTON, 2005; ANSEL, 2007; BRASILE, 2001). De modo semelhante, a disciplina de controle de qualidade também tem uma característica importante, pois se relaciona com a avaliação das fórmulas em desenvolvimento, bem como da qualidade dos medicamentos produzidos, assumindo uma relação paralela com a farmacotécnica (GIL, 2007).

Observando a necessidade agregar novas realidades no ensino em farmácia, considera-se que a proposta didática de integração das atividades práticas entre as disciplinas de farmacotécnica e controle de qualidade pode propiciar recursos que permitam despertar visão crítica e atitude criativa dos alunos, motivar o aprendizado, bem como correlacionar os conteúdos entre as disciplinas.

Para atingir tais objetivos, o planejamento e seleção das atividades tornaram um desafio necessário para flexibilização dos conteúdos programáticos frente às exigências das diretrizes curriculares de forma a garantir capaci-

tação do estudante a um mercado em constante mudança (BRASIL, 2001).

O presente trabalho teve como objetivo a utilização de uma estratégia didática de integração entre as disciplinas de Farmacotécnica e Controle de Qualidade, baseada no desenvolvimento e avaliação do xarope de KCl a 6%. A formulação em questão foi escolhida mediante a viabilidade de manipulação e controle no Laboratório da Farmácia-Indústria do Curso de Farmácia da Universidade São Francisco.

Cabe salientar que a proposta de integração vai de encontro com as necessidades de inovação das estratégias metodológicas do ensino em farmácia com vistas à promoção do processo de aprendizagem sob a ótica multidisciplinar.

## MATERIAL E MÉTODOS

A experiência didática baseou-se no desenvolvimento farmacotécnico do xarope de KCl 6%, efetuado durante a disciplina de Farmacotécnica I. Uma vez formulado o produto, o mesmo foi enviado para ser analisado na disciplina de Controle de Qualidade I. Completada a parte experimental, os alunos apresentaram os resultados obtidos onde comentaram sobre as características das formulações, as diferenças metodológicas, os erros experimentais bem como a análise dos custos de produção. Os experimentos realizados estão descritos a seguir.

**Desenvolvimento farmacotécnico:** Foram preparados dois lotes de 1,2 L de xarope com 6 % de KCl, segundo



procedimentos farmacotécnicos descritos no preparo de xaropes (THOMPSON, 2005; FERREIRA, 2006). Foram utilizados: cloreto de potássio 6%: essência de framboesa 0,01%; corante vermelho de bordeaux 0,01 %; sacarose 85%; metilparabeno 0,02% e água destilada qsp 1,2 L. As formulações foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar com capacidade para 60 mL, a seguir foram rotuladas e conservadas sob temperatura ambiente (25° +/-5° C). As amostras produzidas foram analisadas empregando-se metodologia adaptada da Farmacopéia Brasileira (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988). Os resultados foram comparados com produto comercial (Marca: Hipolabor, Lote: 1283/04, frascos com 150 mL).

**Ensaio físico-químico de qualidade:** Foram realizados os ensaios de identificação, aspecto, uniformidade de dose e volume, densidade e pH conforme descrito na Farmacopéia Brasileira (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988). Também foi verificado o teor das amostras considerando a equivalência em relação à dose.

**Avaliação do aspecto e propriedades organolépticas:** As avaliações da homogeneidade, a cor, o odor e sabor, foram baseadas em critérios subjetivos, a partir de uma escala de valores arbitrários.

**Teste de identificação:** A amostra em solução foi acidificada com ácido nítrico, a seguir adicionou-se nitrato de prata SR. A formação de um precipitado branco caseoso confirma a presença do cloreto correspondente ao cloreto de potássio (CLORETO DE POTÁSSIO, 2002).

**Análise do pH:** Foi realizada potenciometricamente. Após calibração conveniente do potenciômetro, realizaram-se três leituras consecutivas (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988).

**Determinação da densidade:** Foi efetuada através do uso do picnômetro de 25 mL, previamente calibrado. A densidade relativa foi obtida através da relação entre a massa da amostra e a massa da água, a 20°C (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988).

**Ensaio de doseamento:** Transferiu-se para erlenmeyer quantidade equivalente a uma dose do xarope de KCl, a seguir, foram adicionados 25 mL de água destilada, 0.1 g de carbonato de cálcio, 0.1 mL de cromato de potássio M (SR) e titulou-se com nitrato de prata 0,05 M (SV). O procedimento foi repetido 3 vezes (CLORETO DE POTÁSSIO, 2002). O teor especificado foi de não menos de 90% e não mais de 110% de cloreto de potássio.

**Determinação do volume:** Teste utilizado para a determinação do volume nominal em produtos líquidos com dose múltipla, sendo efetuado através do peso do seu conteúdo. Cerca de seis frascos de cada lote foram pesados individualmente, logo a seguir, removeu-se todo

conteúdo. Os recipientes foram lavados com água e em seguida álcool etílico, secos em estufa a 105°C pôr 1 hora, depois de secos, foram pesados novamente. A diferença entre as duas pesagens representa o peso do conteúdo. Determinou-se o peso médio das unidades testadas anotando-se os valores máximos e mínimos individuais. Os volumes correspondentes foram obtidos através da densidade das amostras. Segundo especificação farmacopeica, o volume médio das determinações não pode apresentar desvio maior que o declarado (2%) (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988).

**Uniformidade de dose:** Um volume equivalente a dose de 5 mL de xarope de KCl foi adicionado em um erlenmeyer, a seguir, empregou-se a mesma metodologia para doseamento com replicatas para cada amostra (CLORETO DE POTÁSSIO, 2002).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

É responsabilidade do formulador o desenvolvimento de formulações estáveis, eficazes e seguras durante todo o tempo que durar seu prazo de validade. A escolha correta dos componentes da fórmula é de extrema importância para a estabilidade, eficácia e efeito sensorial do produto final. Neste trabalho foram desenvolvidos dois lotes de xarope de KCl 6%.

O xarope é definido como solução aquosa concentrada de sacarose ou outros açúcares, pode ser medicamento, servir de veículo, edulcorante ou meio suspensor para diversas preparações farmacêuticas (GENARO, 2004; THOMPSON, 2005; ANSEL, 2007).

O cloreto de potássio é o principal componente da preparação. Terapeuticamente é usado como suplemento de potássio indicado nos casos de hipopotassemia ou perda de potássio (GARCIA, 1998). A literatura destaca que o fármaco é solúvel em água, o pH de maior estabilidade para as formulações líquidas orais de cloreto de potássio apresentam valores entre 2,4 a 6,2 (FERREIRA, 2006).

O metilparabeno foi utilizado na preparação como conservante, possui amplo espectro de ação contra bactérias Gram positivas e negativas, fungos, leveduras. A concentração máxima permitida é de 0,8%. É estável em pH de 3,0 a 9,0 em temperatura ambiente. É incompatível com tensoativos aniônicos. O efeito conservante pode ser reforçado através da utilização de 0,18% de metilparabeno com 0,02% de propilparabeno (GARCIA, 1998).

O corante vermelho Bordeaux e a essência de framboesa foram respectivamente usados como corante e

flavorizante (GARCIA, 1998). A sacarose foi empregada como agente de viscosidade e edulcorante com propriedade energética. A água destilada foi empregada como veículo da preparação (GARCIA, 1998; THOMPSON, 2005; FERREIRA, 2006).

Todos os lotes produzidos, bem como o produto comercial apresentaram-se dentro dos limites especificados em relação aos testes de identidade, densidade, pH, volume, uniformidade de conteúdo e teor conforme pode ser observado na Tabela 1.

**Tabela 1.** Resultados obtidos na avaliação da qualidade dos diferentes lotes produzidos do xarope de KCl 6 % e produto comercial.

Ensaio	Resultados		
	Lote 1	Lote 2	Amostra Comercial
Aspecto	Líquido amarelo claro, viscoso e homogêneo	Líquido amarelo claro, viscoso e homogêneo	Líquido incolor, viscoso e homogêneo
Propriedades organolépticas	Sabor amargo e odor característico	Sabor amargo e odor característico	Sabor adocicado e odor característico
Identidade	+	+	+
Densidade (g/mL)	1,305 ± 0,5	1,215 ± 0,6	1,151 ± 0,4
pH	6,2 ± 0,7	6,0 ± 0,4	6,2 ± 0,2
Volume (mL)	58,8 ± 0,7	61,5 ± 0,3	152,2 ± 1,3
Uniformidade de conteúdo (%)	98,8 ± 0,8	99,7 ± 0,8	99,4 ± 1,4
Teor (%)	97,6 ± 0,9	101,8 ± 0,6	102,2 ± 0,8

(+) Positivo para o íon cloreto. Média de três determinações ± CV (%).

Os resultados obtidos na determinação do aspecto e propriedades organolépticas despertaram interesse dos alunos em melhorar as características sensoriais (sabor e cor) das formulações referentes aos lotes 1 e 2. Foram sugeridas mudanças no tipo de veículo, dentre elas a substituição da sacarose por solução de sorbitol ou dispersões de derivados de celulose semi-sintéticos como a metilcelulose e carboximetilcelulose sódica como também a otimização do sistema conservante.

Sob o ponto de vista da proposta didática, considera-se que a mesma atingiu seus objetivos uma vez que incitou os alunos a estudarem a necessidade da otimização das formulações e técnica de preparo do xarope.

Vale ressaltar que a experiência propiciou condições reais as quais geraram situações de motivação e maior envolvimento dos alunos. A atividade também forneceu produtos que foram aproveitados como material de partida em outras aulas práticas, isto não só reduziu o acúmulo de amostras, geração de resíduo químico como também as

despesas de consumo. Outras experiências didáticas têm sido utilizadas entre as disciplinas de Tecnologia Farmacêutica e Controle de Qualidade.

## CONCLUSÃO

Pela análise dos resultados obtidos, pode-se concluir que, os lotes de xarope de KCl produzidos no Laboratório de Farmácia-Indústria, bem como a amostra comercial, estão de acordo com as especificações farmacopêicas em relação à qualidade físico-química.

A atividade proposta envolveu a necessidade de se conhecer as características físicas, químicas, físico-químicas dos princípios ativos e matérias-primas utilizadas na elaboração do xarope; na manipulação de acordo com as técnicas farmacotécnicas; nas medidas apropriadas de controle de qualidade bem como na comparação com as formas farmacêuticas disponíveis no comércio.

Pode-se dizer que a proposta didática permitiu integração entre conteúdos além de aprimorar a capacidade técnica e criativa dos alunos, cuja complexidade exigiu abordagem acadêmica multidisciplinar.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

- ANSEL, H. C.; POPOVICK, N. C.; ALEN Jr, L. V. *Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos*. 8. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2007, p.381-388.
- AUTON, M E. *Delineamento de formas farmacêuticas*, ed. Edição Porto Alegre: Artmed, 2005, 677p
- BRASIL, Conselho Nacional De Educação, Institui Diretrizes Curriculares Nacionais do Curso de Graduação em Farmácia, publicado no Diário Oficial da União de 7/12/2001, Seção 1, p. 25.
- FARMACOPEIA brasileira. 4. Ed. São Paulo: Atheneu, 1988. pte 1, 526p.
- CLORETO DE POTÁSSIO [monografia]. In: *Farmacopéia Brasileira. 4ª ed*, pte 3, São Paulo: Atheneu; 2002.
- FERREIRA, A.O.; SOUZA, G.F. *Preparações orais líquidas*. São Paulo: Pharmabooks, 2005, p.111.
- GARCIA, M.T.C., RUBIO, M.L., ALIAGA, J.L.V. *Monografias Farmacêuticas*, 2ª Ed., Colégio Oficial de Farmacêuticos de la Província de Alicante, 2002, 1085p.
- GENARO, R.G. Remington. *A Ciência e a Prática da Farmácia*. 20ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan AS, 2004, 2208 p.
- GIL, E.S. – *Controle físico-químico de qualidade de medicamentos.*, 2ª. Ed., São Paulo: Pharmabooks, 2007, 485 p
- THOMPSON J. E. *A Prática farmacêutica na manipulação de medicamentos*. Porto Alegre: Artmed, 2006. p.205-210.

# ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS TÉCNICAS DE FIBRINOGÊNIO DOSADO BCT ANALYSER (DADE BEHRING) E DERIVADO ACL 200 (INSTRUMENTATION LABORATORY)

PAULO HENRIQUE DA SILVA<sup>1</sup>  
SILVIA APARECIDA RAMOS<sup>2</sup>  
VANIA ROVEDA<sup>3</sup>

1. Farmacêutico-Bioquímico graduado pela UFPR; Mestre em Genética Humana; Doutorando do Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular da UFPR; Professor da disciplina de Hematologia II do curso de Farmácia e Bioquímica da UFPR .
2. Farmacêutica-Bioquímica graduada pela UNIVALE
3. Farmacêutica-Bioquímica graduada pela UFPR

Autores responsáveis: S.A.Ramos e V. Roveda.  
E-mails: silviaaparecidaramos@hotmail.com e va.rove@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

O fibrinogênio é uma proteína plasmática de alto peso molecular solúvel no plasma sanguíneo. É um polipeptídeo complexo produzido pelo fígado nos hepatócitos, apresenta a forma de um hexâmero composto por dois grupos com três polipeptídeos constituindo três diferentes pares de cadeia (alfa, beta e gama). Cada polipeptídeo é específico de um determinado gene ambos agrupados na região 50 Kb do cromossomo 4q32, (NEERMAN, 2007). O desenvolvimento do conceito de hemostasia universalmente aceito, foi introduzido por Andrew et al em 1980. Conforme opiniões diversas esses conceitos introduzidos por Andrew já não são tão apropriados frente ao grande avanço da tecnologia (MONAGLE, 2006).

Apesar do conceito da cascata da coagulação representar um significativo avanço na compreensão da coagulação e de servir por muitos anos como um modelo, recentes experimentos clínicos observados demonstram que as hipóteses da cascata não refletem completamente os eventos da hemostasia in vivo (RIDDEL et al., 2007). Um dos principais componentes da cascata da coagulação é o fibrinogênio, sendo o fator mais abundante no plasma variando em média 100 à 400 mg/dl, tendo papel de grande importância na formação do coágulo de fibrina, bem como, cofator na agregação plaquetária (LAWRIE, 1998). A cascata da coagulação é iniciada quando ocorre uma exposição do tecido subendotelial, levando a uma imediata ativação do endotélio, a qual se dá pela lesão ou dano propriamente dito ou ativação química do endotélio por meio de mediadores inflamatórios (BUTE-

NAS & MANN, 2002). O aumento de fibrinogênio no plasma está associado com o aumento de risco de eventos vasculares. Já existem drogas específicas que auxiliam na diminuição dos níveis de fibrinogênio no plasma, por exemplo agentes que diminuem a concentração lipídica e anti-hipertensivos (KAKAFIKA, 2007).

A deficiência severa pode ocorrer como doença adquirida, conseqüência da síntese reduzida secundária à falência hepática e durante o consumo pelas coagulopatias. Disfibrinogêemias congênitas e adquiridas, foram descritas, que podem conduzir a um sangramento ou levar a um estágio trombótico (LAWRIE et al., 1998), no entanto, algumas disfibrinogêemias exibem comprometimento da coagulação e diátese hemorrágica, enquanto outras apresentam uma maior tendência a trombose (HENRY, 1999). A afibrinogenemia congênita, na qual basicamente não há síntese de fibrinogênio, acarreta um distúrbio hemorrágico, o qual, paradoxalmente, não é tão severo quanto às hemofilias em termos de anormalidades articulares secundárias à hemorragia (hemartroses), HENRY, J.B., 1999. Os níveis do fibrinogênio ainda podem estar aumentados devido a mudanças fisiológicas, aos contraceptivos orais, e como proteína de fase aguda, (LAWRIE et al., 1998). Os ensaios de fibrinogênio são realizados na investigação desses episódios hemorrágicos, na monitoração da terapia trombolítica e como fator de risco para doenças coronarianas pode estar associado ao aumento da viscosidade plasmática (MACKIE et al., 2002), muitos médicos e laboratórios incluem juntamente com a dosagem de fibrinogênio, o tempo de protrombina (TAP) e o tempo de tromboplastina parcial ativada

(KPTT) como um screening geral nos distúrbios hemostáticos (LAWRIE et al., 2003).

No método de Von Clauss, a dosagem do fibrinogênio se dá em analisadores automatizados ou semi-automatizados, utilizando Kits comerciais, um excesso de trombina é adicionado ao plasma teste, o tempo de coagulação é mensurado e comparado com uma curva de calibração preparada com plasma referência com concentrações conhecidas de fibrinogênio (LAWRIE et al., 2003). O ensaio do fibrinogênio de Clauss, baseado no tempo de coagulação da trombina, é a técnica mais frequentemente usada, mas sofre variações na origem e composição dos reagentes. A maioria das técnicas são padronizadas para mensurar níveis baixos de fibrinogênio e podem ter a sensibilidade ou a exatidão diferente para níveis altos (MACKIE et al., 2002).

O método do fibrinogênio PT- derivado, baseia-se na diferença entre a dispersão da luz na fase estabilizada de reação do tempo de protrombina antes da transformação do fibrinogênio em fibrina, correlaciona-se com a dosagem de fibrinogênio na amostra (PALARETTI, 1991).

Numerosos analisadores coagulométricos oferecem essa estimativa do fibrinogênio baseado na mudança da dispersão da luz ou na densidade ótica durante o tempo de protrombina, obtendo-se, então o valor de fibrinogênio derivado, juntamente com o valor do TAP. Nestes testes, a mudança da dispersão da luz, ou da densidade ótica durante a formação do coágulo, mostra um aumento progressivo até que um platô esteja alcançado. A altura desta resposta da linha de base é proporcional à concentração do fibrinogênio, LAWRIE et al., 1998.

A disponibilidade difundida do fibrinogênio estimado na prática laboratorial, levantou a necessidade de estudos e comparações sobre a variabilidade e a utilidade clínica dos diferentes ensaios (MACKIE et al., 2002). Ao realizar estes ensaios coagulométricos além da visão pré-analítica é de grande importância que se leve em consideração e crie critérios de viabilidade de amostras a fim de evitar interferentes analíticos na execução do teste, como, hiperlipidemia, hiperbilirrubinemia e hemólise, o ensaio ótico certamente é o mais afetado. Dependendo do tipo de interferência e da análise a ser realizada, alguns métodos foram estudados para minimizar a influência de tais interferências, incluindo ultracentrifugação, ultrafiltração, desproteínização, extração dos lipídeos por solventes orgânicos, pré-incubação com oxidase de bilirrubina, entre outros. Porém, estas técnicas além de tomar muito tempo podem representar grande fonte de erros, e custos adicionais (JUNKER, 2005). Assim, o objetivo do presente trabalho foi comparar as duas técnicas para a dosagem de fibrinogênio, através dos analisadores BCT Dade Behring, utilizando

reagente para o teste Multifibren U, Dade Behring e ACL 200 Instrumentation Laboratory que mensura o fibrinogênio estimado por cálculo.

## MATERIAL E MÉTODOS

**Grupo de estudo:** O trabalho foi realizado a partir de 50 amostras de plasmas frescos obtidos em dois laboratórios da cidade de Curitiba sendo que um deles realiza atendimento hospitalar.

**Equipamentos:** Os ensaios foram realizados em coagulômetro BCT (DADE BEHRING), o princípio metodológico se dá pela modificação do método de Clauss. O plasma citratado é levado à coagulação com um grande excesso de trombina. Neste caso, o tempo de coagulação depende largamente do teor de fibrinogênio da amostra.

Outro analisador utilizado foi o ACL 200 (Instrumentation Laboratory) pelo método Fibrinogênio PT- derivado. O processo de coagulação é desencadeado mediante a incubação do plasma com quantidades ótimas de trombolastina e cálcio. Mede-se o tempo que decorre até a formação do coágulo de fibrina. Pode-se também proceder à dedução do fibrinogênio através da análise da alteração do sinal ótico durante a determinação do tempo de protrombina.

**Amostras:** As amostras de sangue foram coletadas diretamente em tubos comerciais de vácuo (VACUETTE) com pressões negativas que contém a concentração correta do anticoagulante citrato de sódio, minimizando fontes de erro.

Após serem processadas em um laboratório as amostras foram alíquotadas (separação do plasma) e transportadas num período máximo de 12 horas, para o outro laboratório participante da pesquisa, sendo mantidas congeladas.

**Reagentes:** Os reagentes utilizados foram:

Multifibren U (Dade Behring): Trombina bovina, péptido retardador da agregação da fibrina; cloreto de cálcio; brometo de hexadimetrina; polietileno glicol 6000; cloreto de sódio; Tris; albumina bovina; conservante Azida de sódio. Produto apresenta-se na forma liofilizada devendo ser preparado com a quantidade de água destilada indicado no rótulo.

Thromborel S: Trombolastina liofilizada proveniente de placenta humana, cloreto de cálcio, estabilizadores, agentes de conservação (Gentamicina, 5-cloro-2-metil4-isotiazol-3-on e 2-metil-isotiazol-3-on)

A finalidade principal desse estudo consiste em comparar exclusivamente os valores (mg/dL) que são liberados pelos analisadores, independente de qualquer fator interferente.

## RESULTADOS

Os resultados individuais das análises podem ser observados na Tabela 1. A média e desvio padrão foram  $310,32 \pm 101,275$  para o analisador BCT, e  $441,92 \pm 165,171$  para o analisador ACL 200. Os resultados foram então analisados para averiguar se existe ou não correlação ou associação entre as duas variáveis pelo coeficiente de Pearson, logo, as técnicas em estudo apresentam uma relação positiva entre si, com (valor de  $r = 0,52$ ), porém não tão próximo de 1, sugerindo cautela quanto a confiabilidade dos resultados. A Figura 1 mostra um diagrama de dispersão onde foi ajustada uma reta de regressão linear  $y=176,62+0,85x$ , onde y são os valores obtidos pela técnica de fibrinogênio derivado ACL 200 e os valores de x são os valores do fibrinogênio dosado pelo BCT.

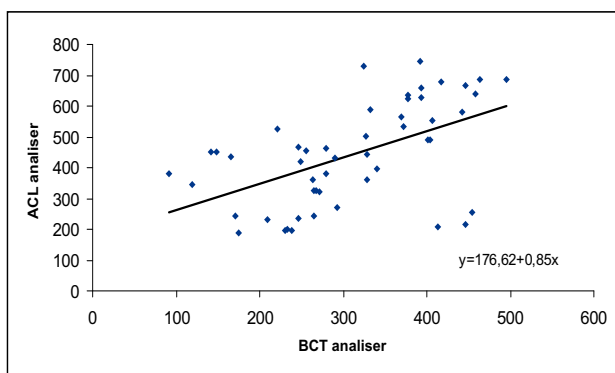


Figura 1. Diagrama de dispersão e a reta de regressão linear melhor ajustada pela relação entre as duas técnicas.

**Tabela 1.** Valores obtidos de fibrinogênio (mg/dl) com o aparelho BCT (Dade Behring) (I), e os valores de fibrinogênio derivado com o aparelho ACL-200 (Instrumentation Laboratory) (II).

Amostra	I	II	Amostra	I	II
1	393	626	26	293	269
2	290	433	27	454	255
3	407	553	28	249	420
4	417	678	29	495	687
5	255	454	30	442	580
6	279	464	31	372	533
7	324	729	32	328	442
8	446	214	33	446	665
9	247	468	34	463	685
10	393	657	35	221	526
11	327	502	36	265	243
12	91	380	37	328	359
13	119	347	38	369	566
14	165	436	39	404	489
15	149	452	40	171	244
16	142	451	41	175	187
17	265	325	42	267	324
18	458	640	43	341	396
19	279	382	44	246	237
20	413	207	45	401	489
21	333	589	46	231	195
22	378	622	47	392	747
23	238	198	48	378	634
24	272	323	49	263	361
25	233	200	50	209	233

## DISCUSSÃO

Estudos anteriores já demonstraram ser o fibrinogênio um marcador para eventos vasculares em doenças arteriais, e a investigação de problemas hemorrágicos já é bem estabelecida bem como os métodos utilizados pela prática clínica para as dosagens de fibrinogênio, ressaltando a grande importância de relatar a origem da tromboplastina, preferencialmente escolher uma marca com pouca turbidez e considerar a categoria clínica do paciente, no que diz respeito a um quadro de sepse, doenças hepáticas, excesso de produtos de degradação da fibrina, ou casos de disfibrinogenemia, enfim casos que perturbam a polimerização da fibrina interferindo na formação final do coágulo (LAWRIE et al., 1998).

Existe uma grande variedade de métodos, reagentes e analisadores para a execução do teste para dosagem de fibrinogênio. Esse estudo teve o intuito de demonstrar a existência de correlação entre as duas técnicas, assim podemos observar que apesar das metodologias mostrarem um valor de  $r = 0,52$  positivo entre si, vimos no gráfico de dispersão que a correlação linear entre as variáveis reflete certa disparidade nos resultados, já que os pontos não estão muito próximos da reta. A dificuldade em questão se trata de valores distintos obtidos de uma mesma amostra dosada por metodologias diferentes, possuem valores de referência semelhante. O aparelho BCT faz uso para a realização do teste de fibrinogênio de um reagente próprio (MULTIFIBREN U). A exemplo de testes como tempo de protrombina se faz necessária a obtenção de uma curva padrão para a realização do teste. Essa curva de calibração para o equipamento BCT se faz por meio de três pontos que expressam então concentrações obtidas por meio de diluições pré-estabelecidas.

Esse equipamento segue o método de referência conhecido como método de Clauss. Já o aparelho ACL 200 apresenta seus resultados de fibrinogênio seguindo a curva de calibração para o teste de protrombina (TAP). Por isso os fibrinogênios são designados de fibrinogênios derivados. A tabela 1 e os gráficos apresentando os valores das concentrações de fibrinogênio obtidos para as cinquenta amostras analisadas, os quais deixam clara a grande diversidade entre as duas metodologias. Pode-se observar concentrações com elevada disparidade saindo da normalidade até mesmo para um valor dado como clinicamente alterado. As menores concentrações na grande maioria das amostras analisadas para esse estudo se deu através do aparelho BCT, o qual faz uso do método padrão de Clauss. Os valores obtidos através do equipamento ACL 200 por sua vez demonstraram concentrações bastante elevadas frente à outra metodologia em comparação.

Essa grande disparidade entre o método PT e Clauss leva a crer que o fibrinogênio derivado sofre maior interferência. Uma hipótese provável e já detalhada em outros estudos publicados faz referência a uma possível interferência na obtenção de fibrinogênio derivado para pacientes cujo resultado de TAP (tempo de protrombina) basal esteja alterado, como em pacientes em terapia anticoagulante. É possível observar valores mais elevados de fibrinogênio PT-derivado comparando com a técnica de Clauss, embora a discrepância não seja consistente em alguns casos, e podem depender do estado clínico do paciente bem como variações inerentes ao procedimento do teste, o reagente utilizado, calibrador e a combinação particular entre reagente e analisador, logo o PT-derivado pode ser menos confiável do que Clauss na investigação da diátese do sangramento, e pode ter inacurácia nas amostras com fibrinogênio elevado (MACKIE et al., 2002).

Para essa classe de pacientes seria então esperado um valor aumentado de fibrinogênio frente às amostras dosadas por meio do método do TP-derivado. Esse trabalho foi realizado com uma população de estudo de origem hospitalar, sendo alguns destes pacientes tratados com alguma terapia anticoagulante, ou seja, com TAP alterado. Dessa forma não é possível fazer uma correlação exata da clínica desses pacientes com a variabilidade de resultados apresentada.

O objetivo era elucidar e demonstrar se uma mesma amostra submetida a diferentes metodologias para a dosagem da concentração de fibrinogênio (já que se utiliza o mesmo valor de referência para qualquer que seja o método empregado) teria como resultado um valor semelhante ou não, respeitando um limite de confiabilidade.

## CONCLUSÃO

A comparação dos valores obtidos das cinquenta amostras analisadas entre os métodos Clauss (Método padrão, representado nesse estudo pelo aparelho BCT) e método do tempo de protrombina (fibrinogênio derivado ACL-200) mostrou variabilidade significativa nos resultados, apesar de ter uma relação positiva mostrado pelo coeficiente de correlação, merecendo atenção já que os valores de referência empregados são utilizados de forma igual para ambas as metodologias. Podemos concluir com este estudo a importância da padronização do método de escolha que se adapte adequadamente a rotina do laboratório, ou seja, no que se refere ao público alvo. É interessante estabelecer uma espécie de limite de corte ou especificação para situação clínica ou terapêutica do paciente para poder utilizar a metodologia do TP- Derivado por exemplo, já que a dosagem de fibrinogênio por

este método sofre sensivelmente alterações no aumento do tempo de protrombina, seja de origem medicamentosa ou patológica

## AGRADECIMENTOS

---

Ao professor Paulo Henrique pelo incentivo e orientação neste projeto e também ao professor Yoshio Hashimoto pela excelente pós graduação oferecida.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

---

BUTENAS, S.; MANN, K.G. Blood Coagulation. **Biochemistry**, Moscou, v. 67, n. 1, 3-12, 2002.

HENRY, J.B. **Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais**. 19 ed. São Paulo: Manole, 1999. 247p.

HOFFMANN, J.J.M.L.; VERHAPPEN, M.A.L. Automated nephelometry of fibrinogen: analytical performance and observations during thrombolytic therapy. **Clinical Chemistry**, Netherlands, v.34, n.10, 2135-2140, 1988.

JUNKER, R. et al. Interferences in coagulation tests – evaluation of the 570- nm method on the Dade Behring BCS analyzer. **Clin Chem Lab Med**, Berlin, v.2, n.43, 244-252, 2005.

KAKAFIKA, A.I.; LIBEROPOULOS, E.N.; MIKHAILIDIS, D.P. Fibrinogen: a predictor of vascular disease. **Curr Pharm Des**, London, v. 13, 1647, 2007.

LAWRIE, A.S. et al. Prothrombin time derived fibrinogen determination on Sysmex CA-6000. **Journal Clinical Pathology**, London, n.51, 462-466, 1998.

LAWRIE, I.J. et al. Guidelines on fibrinogen assays. **British Journal of Haematology**, London, n. 121, 396-404, 2003.

MACKIE, I.J. et al. A performance evaluation of commercial fibrinogen reference preparations and assays for Clauss and PT-derived fibrinogen. **Thromb Haemost**, Stuttgart, n. 87, 997-1005, 2002.

MONAGLE, P. et al. Developmental haemostasis. Impact for clinical haemostasis laboratories. **Thrombosis Haemostasis**, publicado em, v. 95, n. 2, ver pág, 2006.

NEERMAN, V.A. Molecular mechanisms accounting for fibrinogen deficiency: from large deletions to intracellular retention of misfolded proteins. **Journal Thrombosis Haemostasi**, publicado em, v. 5, n. 1, 125-131, 2007.

PALARETTI, G. et al. Fibrinogen assays: a collaborative study of six different methods. **Clinical Chemistry**, Bologna, v. 37, n. 5, 714-719, 1991.

RIDDEL, J.P.Jr, et al. Theories of blood coagulation. **Journal Pediatr Oncol Nurs**, Oakland, v.23, n.3, 123, 2007.