

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DIRETORIA DE GRADUAÇÃO E EDUCAÇÃO PROFISSIONAL
COORDENAÇÃO DO CURSO DE TECNOLOGIA EM PROCESSOS QUÍMICOS

CIMARA FRANCIELI BUDSKE

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA FARMACÊUTICA
DO MELOXICAM**

TOLEDO, PR
2022

CIMARA FRANCIELI BUDSKE

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA FARMACÊUTICA
DO MELOXICAM**

**METHOD DEVELOPMENT AND VALIDATION FOR OF MELOXICAM
PHARMACEUTICAL METHODOLOGY**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do Curso Superior de Tecnologia em Processos Químicos (COPEQ) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, câmpus Toledo, como requisito parcial para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Orientador: RICARDO FIORI ZARA

TOLEDO, PR
2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

Esta licença permite compartilhamento, remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, mesmo para fins comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

CIMARA FRANCIELI BUDSKE

**DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA FARMACÊUTICA
DO MELOXICAM**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenação do curso de Tecnologia em Processos Químicos da UTFPR, câmpus Toledo, como parte das exigências para obtenção do título de Tecnólogo em Processos Químicos.

Aprovado em 01, de dezembro de 2022.

Banca examinadora

Prof. Dr. Ricardo Fiori Zara
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Toledo
Orientador

Prof^ª. Dr^ª. Solange Maria Cottica
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Toledo
Avaliador

Prof. Dr. Clayton Antunes Martin,
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, câmpus Toledo
Avaliador

OBS: A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Curso de Tecnologia em Processos Químicos.

RESUMO

O Meloxicam é um medicamento e anti-inflamatório indicado para o tratamento de artrite, osteoartrite, neuropática, ou condições musculoesqueléticas atuando no alívio da dor, além do efeito analgésico e antipiréticos. Para que o efeito do medicamento seja satisfatório é necessário que os insumos utilizados na fabricação tenham a qualidade esperada. Este trabalho desenvolveu e validou uma metodologia analítica alternativa para quantificação do insumo farmacêutico utilizando a espectrofotometria UV/Vis. O método utilizou do princípio de desenvolvimento sustentável, química verde, onde a realização dos procedimentos analíticos utiliza de solventes menos agressivos, sendo eles, tampão de hidróxido de sódio-glicina pH 8,6, tampão de hidróxido de sódio-glicina pH 9, tampão de hidróxido de sódio-glicina pH 9,4, hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹, e hidróxido de sódio 0,01 mol L⁻¹. O emprego deste princípio permite a não geração de efluentes tóxicos, a não geração de gases indesejáveis por solventes voláteis proporcionando benefícios ambientais e aos analistas. Realizou-se os testes de solubilidade sendo determinado o solvente hidróxido de sódio-glicina pH 9 como a solução diluente ideal para o desenvolvimento da metodologia, com isso, determinou-se os parâmetros de controle para validação da metodologia, sendo eles especificidade, linearidade, intervalo, repetibilidade, exatidão e robustez, para que esta possa ser posta em prática. A realização da validação do método analítico proposto demonstrou através de estudos experimentais que o método desenvolvido é adequado para a finalidade pretendida, sendo assegurados a confiabilidade dos resultados obtidos, de caráter quantitativo ou qualitativo.

Palavras-chave: anti-inflamatório; espectrofotometria; química verde; figuras de mérito.

ABSTRACT

Meloxicam is a medication and anti-inflammatory drug indicated for the treatment of arthritis, osteoarthritis, and neuropathic or musculoskeletal conditions acting to relieve pain in addition to analgesic and antipyretic effects. For the effect drug to be satisfactory, the inputs used in the manufacture must have the expected quality. This work developed and validated an alternative analytical methodology for the quantification of the pharmaceutical ingredient using UV/Vis spectrophotometry. The method used the principle of sustainable development, green chemistry, where the performance of the analytical procedures use less aggressive solvents, namely, sodium hydroxide-glycine buffer pH 8,6, sodium hydroxide-glycine buffer pH 9, the buffer of sodium hydroxide-glycine buffer pH 9,4, Sodium hydroxide 0,1 mol L⁻¹, and, sodium hydroxide 0,01 mol L⁻¹. The use of this principle allows the non-generation of toxic effluents, and the non-generation of undesirable gases by volatile solvents, providing environmental and analyst benefits. Solubility tests were carried out, determining the solvent sodium hydroxide-glycine pH 9 as the ideal diluent solution for the development of the methodology, with this, the control parameters for validation of the methodology were determined, namely specificity, linearity, range, repeatability, accuracy and robustness, so that it can be put into practice. Validation of the proposed analytical method demonstrated through experimental studies that the developed method is suitable for the intended purpose, ensuring the reliability of the results obtained, whether quantitative or qualitative.

Keywords: anti-inflammatory; spectrophotometry; green chemistry; figures of merit.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Estrutura Química do meloxicam	13
Figura 2. Diagrama dos elementos que compõe um espectrofotômetro UV-Vis	17
Figura 3. Varredura de amostras contaminadas com excipientes Dilucap® e Celulomax® comparadas com o padrão de Meloxicam.	26
Figura 4. Variação das concentrações das amostras com suas respectivas absorbâncias	27
Figura 5. Intervalo dos limites Superior e Inferior comparados com amostra a 100% ..	28

LISTA DE TABELAS

Quadro 1. Classificação dos testes segundo sua finalidade.....	17
Quadro 2. Ensaio necessários para a validação do método analítico	18
Quadro 3. Resultados encontrados no teste de solubilidade.....	24
Tabela 1. Porcentagem das concentrações preparadas	27
Tabela 2. Repetitividade das amostras em dias diferentes nas mesmas condições	29
Tabela 3. Exatidão dos resultados.	30
Tabela 4. Variação dos parâmetros de metodologia para avaliação de robustez	31
Tabela 6. Comparação de valores de absorvância pelo método farmacopeico e pelo método proposto.....	32
Tabela 7. Teste-t: duas amostras presumindo variâncias equivalentes.	32

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

pH Potencial Hidrogeniônico.

NaOH Hidróxido de Sódio.

UV Ultravioleta.

Vis Visível.

nm Nanômetro.

p. Página.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
2. OBJETIVOS	11
2.1 Objetivo geral.....	11
2.2 Objetivos específicos	11
3. JUSTIFICATIVA	12
4. REVISÃO DE LITERATURA	13
4.1 Medicamento	13
4.2 Meloxicam	11
4.3 Controle de qualidade	11
4.4 Espectrofotometria Uv-Vis	11
4.5 Validação de metodologia de análise farmacêutica.....	17
5. MATERIAIS E MÉTODOS	21
5.1 Metodologia.....	21
5.2 Preparo de soluções diluentes	21
5.3 Preparo para leitura.....	21
5.4 Solubilidade	22
5.5 Especificidade.....	22
5.6 Linearidade	22
5.7 Repetitividade.....	23
5.8 Exatidão.....	23
5.9 Robustez	23
6. RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
6.1 Solubilidade	24
6.2 Especificidade.....	25
6.3 Linearidade	26
6.4 Intervalo	28
6.5 Repetitividade.....	29
6.6 Exatidão.....	30
6.7 Robustez	31
6.8 Comparação de metodologias	32
7. CONCLUSÃO	34
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

O controle de qualidade de qualquer produto ou serviço se refere ao cumprimento dos requisitos estabelecidos por normas e regulamentos. Para medicamentos, este conceito de qualidade é mais criterioso, tendo que garantir também a segurança e eficácia do uso de seus medicamentos para pacientes e equipes de saúde (ANVISA, 2017a).

O Meloxicam é um medicamento anti-inflamatório indicado para aliviar dores, principalmente musculoesqueléticas, osteoartrite e artrite, sendo este um medicamento que possui fundamental importância para a saúde e bem-estar da vida dos seres humanos, são necessários o estabelecimento da qualidade deste medicamento.

Para isto, são realizadas análises, onde, em conjunto, visam garantir identidade, atividade, teor, pureza, eficácia e inocuidade que são encontrados através de análises laboratoriais. A realização dessas análises deve possuir como base a escolha de uma metodologia adequada garantindo resultados com qualidade obtidos através de parâmetros de controle determinados por método de validação (MACHADO, 2016).

A validação é um método de investigação utilizado para determinar se a metodologia analítica definida é adequada para seu propósito analítico, ou seja, se este obtém resultados analíticos com um nível de confiança aceitável.

Para a realização deste processo utilizam-se uma série de parâmetros que avaliam o desempenho do método, como precisão, exatidão, seletividade ou especificidade, linearidade, faixa operacional, recuperação, limite de detecção, limite de quantificação, sensibilidade, robustez e aplicabilidade, onde serão utilizadas de acordo com a finalidade pretendida (LANG, 2021).

Durante o desenvolvimento deste trabalho, implementou-se em sua metodologia o princípio de desenvolvimento sustentável, química verde, onde a realização dos procedimentos analíticos utiliza de solventes menos agressivos.

O emprego deste princípio permite a diminuição da geração de efluentes tóxicos ao meio ambiente, e a diminuição da geração de gases indesejáveis por solventes voláteis. Esta implementação proporciona benefícios ambientais e aos analistas que manipulam estes solventes, além de fornecer a diminuição de gastos com o armazenamento e tratamento de resíduos, a descontaminação e o pagamento de indenizações (PRADO, 2003).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi o desenvolvimento e validação de metodologia analítica alternativa para quantificação do insumo farmacêutico ativo Meloxicam em cápsulas, utilizando a espectrofotometria UV/Vis.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a solubilidade do meloxicam em diversos pH's e na presença de tampões.
- Desenvolver uma metodologia analítica para quantificação do Meloxicam em cápsulas utilizando solventes de base aquosa.
- Realizar a validação da metodologia utilizando parâmetros utilizados pela ANVISA, sendo elas especificidade, linearidade, intervalo, repetibilidade, exatidão e robustez.
- Comparar estatisticamente a nova metodologia com a já amplamente utilizada pela literatura.

3 JUSTIFICATIVA

Primeiramente buscou-se nas farmacopeias vigentes a metodologia analítica disponível utilizada atualmente para a quantificação do insumo farmacêutico ativo Meloxicam em cápsulas, sendo apresentada a utilização de soluções a base de solventes orgânicos, como o álcool metílico, como principal solução utilizada para sua realização.

Encontrou-se na literatura dados relevantes relacionados ao insumo, como, por exemplo, a tendência a ser solúvel em soluções de NaOH de pH elevado e soluções tamponantes de pH próximo de 8. Com isso, pensou-se em realizar a substituição dos solventes orgânicos utilizados atualmente, por soluções inorgânicas de base aquosa com caráter básico.

A substituição destas soluções tem por objetivo manter a qualidade dos resultados das análises quantitativas, proporcionar uma diminuição de custos durante o preparo, além de poder promover a redução ou eliminação da geração de substâncias nocivas à saúde humana e ao meio ambiente na realização de ensaios referentes a este insumo farmacêutico, podendo assim ser caracterizada como uma implementação dos conceitos de química verde (PRADO, 2003).

De acordo com MACHADO, (2016), os fármacos são classificados em quatro classes diferentes, de acordo com sua solubilidade e permeabilidade intestinal, sendo classe I, alta solubilidade e alta permeabilidade, classe II, baixa solubilidade e alta permeabilidade, classe III, alta solubilidade e baixa permeabilidade e classe IV, baixa solubilidade e baixa permeabilidade. O Meloxicam pertencente a classe II, com solubilidade baixa e alta permeabilidade, sendo alvos de estudos os fármacos pertencentes a este grupo justamente por apresentarem problemas de solubilidade, dissolução e biodisponibilidade.

De acordo com Fernandes, (2003), o uso de excipientes na produção de fórmulas farmacêuticas influencia diretamente em sua estabilidade e efetividade, sendo empregado na formulação com o intuito de agregar volume ao preparo, facilitar a sua administração, proteção e liberação adequadas. São utilizados atualmente diversos tipos de excipientes como a lactose e o amido por exemplo, cada qual com sua função.

O excipiente utilizado no preparo do Meloxicam é o amido, pode ter origem a partir do milho, trigo ou batata, tendo função agregante, a fim de facilitar a compressão durante o processo de fabricação, e, desintegrante o que facilita a desagregação e dissolução mais rápida após administração da cápsula (FERNANDES, 2003).

A solubilidade é um parâmetro importante utilizado na caracterização química, onde pode-se identificar e quantificar o soluto apropriado para a dissolução em um determinado solvente. A realização de um teste de análise de solubilidade para o ativo farmacêutico Meloxicam é necessária para proporcionar a disponibilidade de dados necessários para a realização do projeto (ROSA, 2011).

Para a realização de ensaios de quantificação de teor de Meloxicam da metodologia existente, utiliza-se o insumo álcool metílico, ou, metanol, como solução diluente (ROSA, 2011).

Este composto possui em sua estrutura molecular um átomo de carbono, três de hidrogênio e uma hidroxila (CH_3OH), sendo caracterizado como um líquido límpido e incolor, volátil, que produz vapores e é altamente inflamável, provoca irritação moderada à pele, provoca irritação ocular, danos ao sistema nervoso e aos nervos ópticos. Por possuir hidroxila em sua estrutura, proporciona solubilidade ao ativo Meloxicam permitindo a realização de ligações intermoleculares (FISPQ, 2012).

Para realização de ensaio de solubilidade do ativo, primeiramente deve-se observar a estrutura química do Meloxicam apresentada na Figura 1. Por sua estrutura principal ser composta principalmente por cadeias cíclicas, estas dificultam sua solubilidade, portanto, a

solubilidade do Meloxicam é baixa e depende exclusivamente da presença do grupamento hidroxila OH e do grupamento NH (ROSA, 2011).

Estes grupamentos permitem a realização de ligações de hidrogênio em sua cadeia. Com isso, define-se a utilização como soluções testes de solubilidade, soluções de caráter básico de NaOH com variação de concentrações $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ e $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, bem como a utilização de solução tamponante com pH próximo de 8,0 (ROSA, 2011).

Um tampão é uma solução mista aquosa em que o pH tende a resistir a mudanças no pH quando são adicionadas pequenas quantidades de ácido ou bases fortes (NELSON, 2019).

Cada solução tamponante possui sua região de tamponamento onde a força de tamponamento do sistema é máxima. Um sistema tampão é uma solução em água, de um ácido fraco, o doador de prótons, e sua base conjugada, o acceptor de prótons, na forma de sal ou, uma solução em água de uma base fraca, e seu ácido conjugado na forma de sal (NELSON, 2019).

A solução tampão de hidróxido de Sódio-glicina a ser utilizada para os testes referentes a metodologia proposta consiste no adicionamento da base, hidróxido de sódio na solução tampão de glicina, tendo ambas as afinidades com o hidróxido H^+ existente no meio, ampliando a dissociação da base, mantendo o pH inalterado, e estabilizando a solução (NELSON, 2019).

A implantação da substituição do solvente álcool metílico por soluções de base aquosa se qualifica como um aprimoramento do processo já existente, seguindo os princípios de desenvolvimento sustentável, devendo manter e melhorar a qualidade de vida, reduzindo o uso e a geração de substâncias tóxicas, e com isso diminuindo os danos causados ao meio ambiente (PRADO, 2003).

Além de proporcionar a diminuição dos impactos ambientais, este também pode apresentar a diminuição de custos, por não necessitar de controle ao armazenamento ou para controle e tratamento dos resíduos formados e até mesmo gastos com indenizações (PRADO, 2003).

4.4 Controle de qualidade

Segundo LANG, (2021), o controle de qualidade é um conjunto de medidas a serem seguidas para que se possa comprovar que um medicamento ou derivado, se enquadra dentro dos critérios de atividade, inocuidade, pureza, eficácia e segurança. Podem ser realizadas em qualquer etapa do processo de fabricação de um determinado lote de medicamentos.

As realizações das análises quantitativas baseiam-se principalmente na reprodutividade de forma adequada das reações químicas, sendo empregadas em quantidades necessárias de reagentes para ocorrência das reações, ou, para a quantificação do produto obtido na reação (ANVISA, 2012)

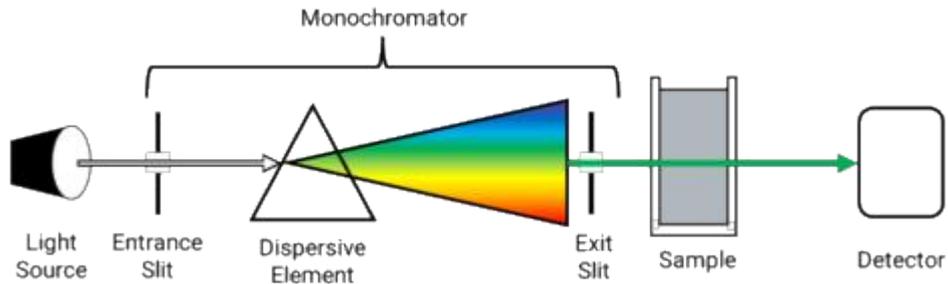
Um dos principais métodos utilizados para quantificação, é o método espectrofotométrico, onde este depende de uma energia radiante e de um determinado comprimento de onda que será absorvido pela amostra. Dependendo do comprimento de onda a ser utilizado, as medidas das amostras ou soluções irão ser realizadas no visível, ultravioleta ou infravermelho (VOGEL, 2002).

4.5 Espectrofotometria UV-Vis

De acordo com HARRIS, (2017), o princípio de funcionamento de um espectrofotômetro consiste em uma fonte de luz, um elemento dispersivo de comprimento de onda, amostra e detector, utilizado para realização de análises quantitativas. Este equipamento possui um monocromador que abriga uma variedade de espelhos, fendas e grades, quando a luz pancromática vinda de uma fonte de luz é introduzida no monocromador através da fenda de entrada e colide em uma rede de difração, onde a luz é girada para selecionar o comprimento de onda requerido.

Esta luz então é refocada por outro espelho pela fenda de saída sendo ajustada para controlar a largura de banda espectral, sendo focada novamente por espelhos e direcionada para a amostra onde parte de sua luz é absorvida pela amostra, e o restante é transmitido ou refletido de uma amostra para um detector que as converte em um sinal, o diagrama dos elementos que compõe um espectrofotômetro pode ser observado o esquema do funcionamento do equipamento na Figura 2 (HARRIS, 2017).

Figura 2 - Diagrama dos elementos de um espectrofotômetro UV-Vis.



Fonte: HARRIS, 2017.

Para realização das leituras das amostras para a validação de metodologia do Meloxicam no equipamento espectrofotômetro, utiliza-se a faixa de comprimentos de ondas para realização de varredura é utilizado de 250 a 400 nm, o comprimento de onda que apresenta maior absorção para realização das leituras geral em 362 nm, onde deverá exibir máximos de absorbância (USP, 2019).

4.6 Validação de metodologia de análise farmacêutica

A realização de validação de um método analítico deve demonstrar através de estudos experimentais que o método desenvolvido é adequado para a finalidade pretendida, sendo assegurados a confiabilidade dos resultados obtidos, seja de caráter quantitativo ou qualitativo (ANVISA, 2017a).

Para o desenvolvimento de metodologias analíticas que não estão descritas em farmacopeias ou em formulários oficiais reconhecidos pela ANVISA, a metodologia será considerada validada desde que sejam avaliados os parâmetros de validação, sendo eles, especificidade e seletividade, linearidade, intervalo, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e robustez (ANVISA, 2017a).

É de suma importância a utilização de equipamentos calibrados durante a realização dos ensaios, bem como analistas devidamente treinados e capacitados para sua realização (ANVISA, 2003).

Os testes a serem realizados são classificados de acordo com a sua respectiva finalidade, podendo ser observado no Quadro 1.

Quadro 1 - Classificação dos testes segundo sua finalidade.

Categoria	Finalidade do teste
I	Testes quantitativos para a determinação do princípio ativo em produtos farmacêuticos ou matérias-primas
II	Testes quantitativos ou ensaio limite para a determinação de impurezas e produtos de degradação em produtos farmacêuticos e matérias primas
III	Testes de performance (por exemplo: dissolução, liberação do ativo)
IV	Testes de identificação

Fonte: ANVISA, 2003.

Os ensaios a serem realizados são classificados de acordo com sua respectiva finalidade, podendo ser observados no Quadro 2.

Quadro 2 - Ensaio necessários para a validação do método analítico.

Parâmetro	Categoria I	Categoria II		Categoria III	Categoria IV	
		Quantitativo	Ensaio Limite			
Especificidade	Sim	Sim	Sim	*	Sim	
Linearidade	Sim	Sim	Não	*	Não	
Intervalo	Sim	Sim	*	*	Não	
Precisão	Repetibilidade	Sim	Sim	Não	Sim	Não
	Intermediária	**	**	Não	**	Não
Limite de detecção	Não	Não	Sim	*	Não	
Limite de quantificação	Não	Sim	Não	*	Não	
Exatidão	Sim	Sim	*	*	Não	
Robustez	Sim	Sim	Sim	Não	Não	

Fonte: ANVISA, 2003.

*Pode ser necessário, dependendo da natureza do teste específico.

**Se houver comprovação da reprodutividade não é necessária a comprovação da Precisão Intermediária.

De acordo com as tabelas apresentadas, para a realização do desenvolvimento e validação da metodologia de produtos farmacêuticos pretendidas, deverá ser utilizado como base os parâmetros dispostos na categoria I, sendo eles, especificidade, linearidade, intervalo, repetibilidade, exatidão e robustez (ANVISA, 2017b).

A especificidade é a avaliação da capacidade de um método medir exatamente um composto na presença de outros sem alteração nos resultados. Em análises quantitativas a especificidade pode ser determinada através de um método de comparação, sendo utilizadas os resultados de uma amostra com valores conhecidos, sendo a amostra contaminada com impurezas, excipientes ou posta sob condições de estresse, como, influência de temperaturas ou umidade por exemplo, sendo realizados para que se possa comprovar que os resultados obtidos desta amostra não sofreram alteração (ANVISA, 2017b).

A linearidade é um método analítico onde se utiliza o preparo de concentrações diferentes 70 % a 130 % para ensaio da amostra a fim de se obter resultados diretamente proporcionais a estas concentrações, devendo ser determinada por no mínimo 5 concentrações diferentes, com base de critério aceitável de coeficiente de correlação sendo igual a 0,99 (ANVISA, 2017b).

O intervalo está ligado diretamente ao ensaio de linearidade, como sendo a faixa de limite de quantificação superior e inferior encontrados de um método analítico (ANVISA, 2017b).

A repetitividade é a determinação de uma amostra repetidamente nas mesmas condições em curto intervalo de tempo, utilizando o mesmo equipamento e o mesmo analista, sendo valores utilizados como referência para os resultados a serem obtidos pela metodologia a ser validade de 70 % a 130 % da concentração teórica do teste (ANVISA, 2017b).

A exatidão é a proximidade dos resultados obtidos da amostra com os resultados conhecidos para o padrão de referência utilizado, sendo calculada como porcentagem de recuperação das quantidades obtidas ou como diferença de percentual entre as médias e o valor de referência (ANVISA, 2017b).

A robustez é encontrada através da medida da capacidade de resistência de pequenas variações controladas dos parâmetros analíticos, podendo ser utilizado para espectrofotometria as variações de pH, temperatura ou diferentes fabricantes de solventes. O resultado indica a confiança do método durante sua aplicação (ANVISA, 2017b).

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Metodologia

A metodologia desenvolvida levou em consideração a estrutura química do Meloxicam, sua solubilidade e a diminuição da toxicidade dos solventes utilizados.

5.2 Preparo de soluções diluentes

- Tampão de hidróxido de Sódio-glicina pH 8,6: Foi adicionado 50 mL de glicina 1 mol L⁻¹, 4 mL de hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹, e ajustado volume final para 200 mL com água ultrapura. Realizou-se medição de pH e ajustou-se se necessário com ácido clorídrico ou solução de hidróxido de sódio.
- Tampão de hidróxido de Sódio-glicina pH 9,0: Foi adicionado 50 mL de glicina 1 mol L⁻¹, 8,8 mL de hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹, e ajustou-se volume final para 200 mL com água ultrapura. Realizou-se medição de pH e ajustou-se se necessário com ácido clorídrico ou solução de hidróxido de sódio.
- Tampão de hidróxido de Sódio-glicina pH 9,4: Foi adicionado 50 mL de glicina 1 mol L⁻¹, 16,8 mL de hidróxido de sódio 0,1 mol L⁻¹, e ajustou-se volume final para 200 mL com água ultrapura. Realizou-se medição de pH e ajustou-se se necessário com ácido clorídrico ou solução de hidróxido de sódio.

5.3 Preparo e leitura

Foram preparados padrão de referência, sendo pesado 10 mg de ativo meloxicam em balança analítica e abertura de amostras de cápsulas de meloxicam, para balão de 100 mL, sendo posteriormente adicionados solução diluente, em seguida submetido a banho de ultrassom por 15 minutos para solubilização das amostras, completou-se o volume com o mesmo diluente sendo realizado a filtração em papel filtro qualitativo das amostras e não da amostra padrão de referência.

Após, transferiu-se 1,5 mL do filtrado com o auxílio de uma micropipeta (0,1 mL - 1 mL) para balão volumétrico de 10 mL e foi completado o volume com a solução diluente, homogeneizando, obtendo a concentração final de 0,015 mg mL⁻¹,

Após o término do preparo das amostras selecionou-se o comprimento de onda de 362 nm no Espectrofotômetro UV 1800 Shimadzu, zerando com o branco, solução reagente utilizada no preparo. Em seguida, foi realizada a leitura dos padrões em duplicata e as leituras das amostras individualmente. Realizou-se uma varredura na faixa de 250 nm a 400 nm, comparando a varredura das amostras com a varredura do padrão por sobreposição e verificou-se se são equivalentes, devendo exibir máximos de absorção em 362 nm, bem como, realizou-se leituras.

5.4 Solubilidade

Para realização dos testes de solubilidade fez-se os cálculos necessários para se chegar a concentração de $0,015 \text{ mg mL}^{-1}$ da solução amostra descrita na metodologia 5.3 em seguida, preparou-se inicialmente as soluções a serem utilizadas de acordo com o item 5.2 sendo esses, hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, hidróxido de sódio $0,10 \text{ mol L}^{-1}$, hidróxido de sódio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, tampão de hidróxido de Sódio-glicina pH 8,6, tampão de hidróxido de Sódio-glicina pH 9,0, tampão de hidróxido de Sódio-glicina pH 9,4 em balão volumétrico de 1000 mL cada, sendo realizada o preparo das amostras, e, finalizando o preparo das amostras de acordo como descrito na metodologia 5.3.

Após a realização dos testes de solubilidade e identificação da solução que apresentou as melhores características para escolha do solvente mais adequado, efetuou-se a análise das figuras de mérito.

5.5 Especificidade

Para especificidade, realizou-se o prepara das amostras com a adição de excipientes a fim de contaminar as amostras, os mais comuns presentes nas amostras do laboratório, celulose microcristalina modificada (Celulomax) e, amido (Dilucap). Finalizou-se o preparo das amostras de acordo com descrita na metodologia 6.1. Preparo de referência.

Realizou-se uma varredura na faixa de 250 nm a 400 nm, comparando a varredura das amostras com a varredura do padrão por sobreposição e verificou-se se são equivalentes, devendo exibir máximos de absorção em 362 nm.

5.6 Linearidade

Para o teste de linearidade preparou-se as amostras em 7 concentrações diferentes, contemplando 70, 80, 90, 100, 110, 120 e 130% a partir de uma solução estoque de $0,015 \text{ mg mL}^{-1}$.

Abriu-se as cápsulas das amostras disponíveis de Meloxicam para cada concentração em triplicata, e pesou-se o padrão de referência em balança analítica para concentração a 100% em balão volumétrico de 50 mL.

Para quantificação de intervalo, foram utilizados como base os valores encontrados através do preparo da análise de linearidade, onde utilizou-se os resultados de absorvância das concentrações calculando-se a média das amostras preparadas de 90% e 110% para quantificação dos limites superiores e inferiores.

5.7 Repetitividade

O teste de repetitividade foi realizado sendo preparada as amostras a 70%, 100% e 130% da solução $0,015 \text{ mg mL}^{-1}$, onde realizou-se a análise deste método repetidamente nas mesmas condições em curto intervalo de tempo, calculando-se a porcentagem de recuperado tendo de ser menores do que 5 %.

5.8 Exatidão

Para o teste de exatidão, comparou-se os valores obtidos nas absorvâncias do padrão para com as amostras a 100% de sua concentração $0,015 \text{ mg mL}^{-1}$.

5.9 Robustez

O estudo de robustez foi feito sendo realizadas variações dos equipamentos e reagentes utilizados, sendo estes, duas micropipetas de (0,1 mL - 1 mL) diferentes, ultrassom com aquecimento a $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e sem aquecimento, diferentes marcas de reagentes, sendo elas Reatec e Neon, diferentes equipamentos, Espectrofotômetro com varredura PG INSTRUMENTS modelo T80+, e, Espectrofotômetro UV 1800 Shimadzu.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Solubilidade

Para o método proposto, inicialmente foram realizados testes de solubilidade do Meloxicam em diversos solventes, sendo esses, hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$, hidróxido de sódio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$, tampão de hidróxido de sódio-glicina pH 8,6, tampão de hidróxido de sódio-glicina pH 9, tampão de hidróxido de sódio-glicina pH 9,4, sendo utilizado como parâmetro os resultados encontrados com o solvente metanol, apresentados no Quadro 3.

Quadro 3 - Resultados encontrados no teste de solubilidade.

Solvente	Solubilidade
Hidróxido de sódio 1 mol L^{-1} pH 14	Solúvel
Hidróxido de sódio $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ pH 13	Pouco solúvel
Hidróxido de sódio $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ pH 12	Pouco solúvel
Tampão de hidróxido de sódio-glicina pH 8,6	Pouco solúvel
Tampão de hidróxido de sódio-glicina pH 9,0	Solúvel
Tampão de hidróxido de sódio-glicina pH 9,4	Pouco solúvel
Álcool Metílico	Solúvel

Fonte: Autoria própria. 2022

Pode-se notar através do Quadro 3, que, tanto o hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ quanto o tampão de hidróxido de Sódio-glicina com pH 9,0 apresentaram solubilidade para o ativo, sendo as outras soluções de caráter pouco solúvel.

Levando em consideração que o hidróxido de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ apresenta pH elevado o que proporciona a solução instabilidade e corrosão as vidrarias e equipamentos utilizados, podendo a amostra sofrer degradação antes de ser analisada, optou-se por utilizar a solução tampão de hidróxido de Sódio-glicina com pH 9,0 para realização das análises.

Os íons de hidrogênio se unem com a solução formando água ampliando a dissociação da base, repondo os íons hidroxila e mantendo o pH inalterado, estabilizando a solução, além

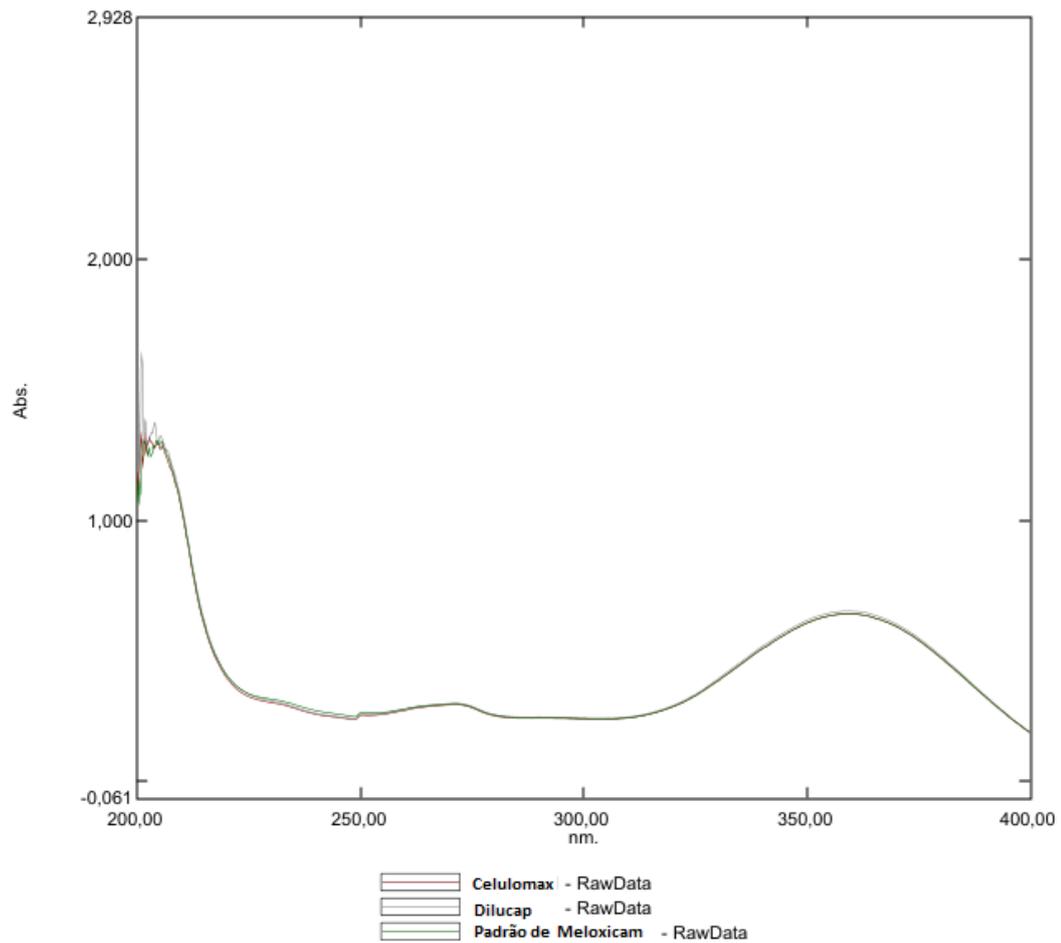
da solução ser tamponante o que proporciona estabilidade a solução e não provoca a corrosão nas vidrarias e equipamentos utilizados, tornando esta solução ideal para o desenvolvimento da metodologia descrita no item 6.1.

6.2 Especificidade

Um dos parâmetros de controle de qualidade utilizados, sendo realizado de acordo com o item 5.5, ao qual foram encontrados os resultados presentes na Figura 3. Para a análise de seletividade quantitativa, foram realizados a determinação por comparação dos resultados obtidos de amostra contaminados com os excipientes Dilucap® e Celulomax®, com quantidades apropriadas, sendo estes os mais comuns presentes nas amostras do laboratório.

Foram comparadas as varreduras das amostras contaminadas com as varreduras do padrão de referência não contaminadas, onde, pode-se observar a sobreposição das amostras com o padrão nos mesmos comprimentos de onda no decorrer da varredura, indicando através destes resultados que as contaminações realizadas não comprometem os dados analíticos das amostras.

Figura 3 - Varredura de amostras contaminadas excipientes Dilucap® e Celulomax® sobrepostas com o padrão de Meloxicam.



Fonte: Autoria própria. 2022

6.3 Linearidade

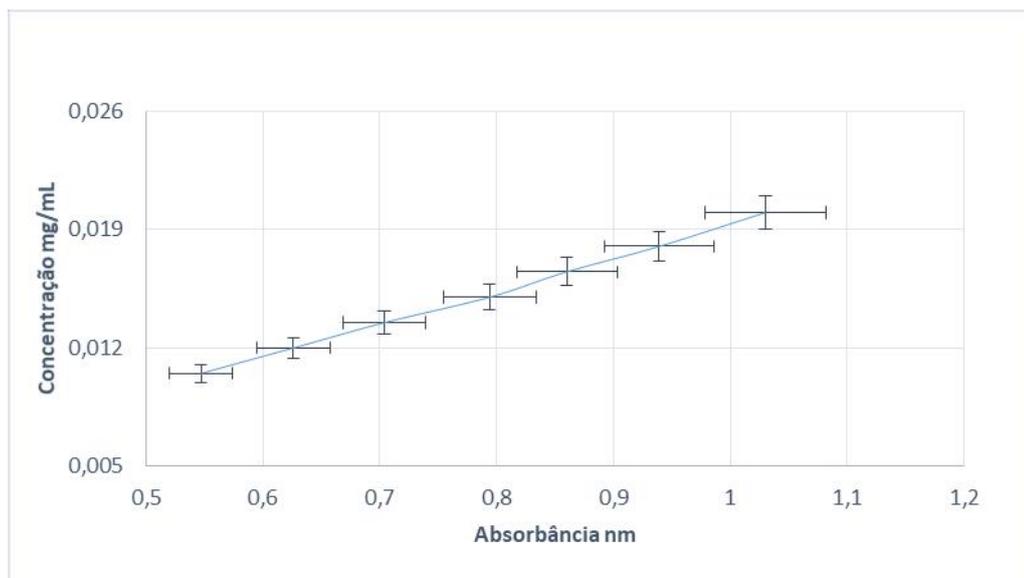
Para ensaio de controle de qualidade de linearidade preparou-se amostras de acordo com o item 5.6. Com isso, realizou-se a medição das absorvâncias com 5 concentrações diferentes, utilizando como parâmetro a absorvância dos padrões a 100 %, onde, para se determinar as concentrações encontradas fez-se os cálculos encontrados no Tabela 1, os valores de recuperação variaram até 5 % de seus valores reais. A partir destes valores plotou-se um gráfico para melhor visualização, presente na Figura 5.

Tabela 1 - Porcentagem das concentrações preparadas.

Padrões	Absorbância (nm)	Concentração Desvio Padrão	
Média	0,832	100+/-5	
Concentração (%)	Absorbância (nm)	Recuperado (%)	Diferença de recuperação (%)
70	0,546	71,60	1,60
80	0,628	82,36	2,36
90	0,694	91,01	1,01
100	0,791	103,73	3,73
110	0,860	112,78	2,78
120	0,949	124,45	4,45
130	1,006	131,93	1,93

Fonte: Autoria própria. 2022

Referente aos valores recuperados para com a sua concentração inicial, as diferenças de recuperação não se obtiveram valores acima do máximo permitido, 5%, além de apresentarem um comportamento linear ao se plotar os valores obtidos pelos valores recuperados das leituras das absorbâncias de acordo com suas respectivas concentrações apresentadas por um gráfico.

Figura 4 - Variação das concentrações das amostras com suas respectivas absorbâncias.

Fonte: Autoria própria. 2022

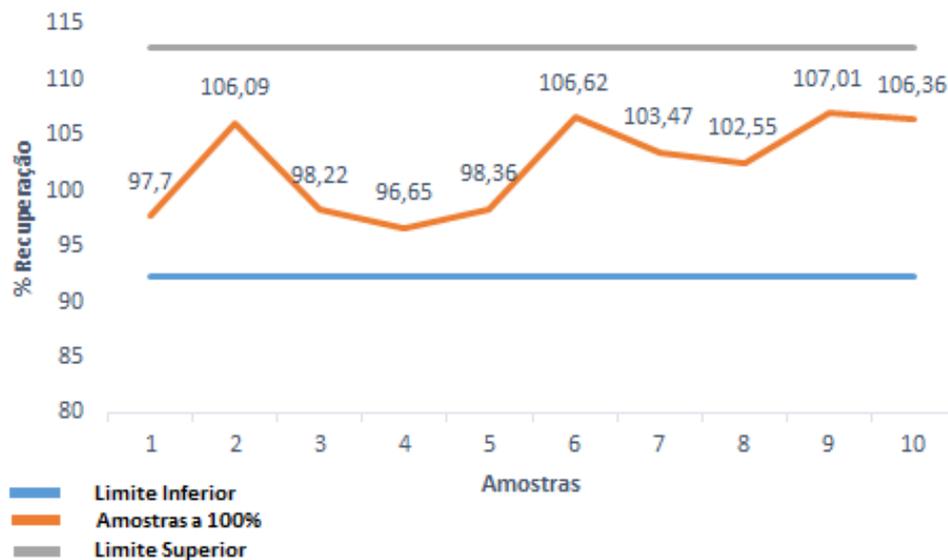
Através da análise do gráfico apresentado na Figura 5, pode ser identificado que as amostras obtiveram uma linha de tendência de forma linear, coerente com suas respectivas concentrações requeridas para sua determinação.

6.4 Intervalo

Para avaliação de intervalo utilizou-se os critérios de aceitabilidade descritos na Farmacopeia Brasileira (2010) para uniformidade de conteúdo dentro das especificações cuja faixa é de 90 a 110 %, sendo utilizados os valores de absorbância encontrados nestas concentrações, e para utilização de avaliação, ou seja, se os valores encontrados estão dentro dos limites de quantificação estipulados, os resultados encontrados a 100 % de concentração.

Realizou-se os cálculos de média para os valores obtidos para 90 e 110 %, presentes na Tabela 1, para se obter os valores de limites superior e inferior, sendo estes utilizados como parâmetros, adotados os valores de 92,32 para limite inferior e 112,78 para limite superior, comparadas com as amostras a 100 % presentes na Figura 6.

Figura 5 - Intervalo dos limites Superior e Inferior comparados com amostra a 100 %.



Fonte: Autoria própria. 2022

A partir dos valores obtidos para os limites superior e inferior, plotou-se os valores encontrados para as amostras a 100 % de sua concentração $0,015 \text{ mg mL}^{-1}$, sendo observados que os resultados a 100 % não excedem os limites superior e inferior determinados.

6.5 Repetitividade

A repetitividade é a determinação de uma amostra repetidamente nas mesmas condições em curto intervalo de tempo, utilizando o mesmo equipamento e o mesmo analista, sendo valores utilizados como referência para os resultados a serem obtidos pela metodologia a ser validada de 70%, 100% e 130% da concentração teórica do teste. Com isso obteve-se os dados pertinentes a Tabela 3.

Tabela 2 - Repetitividade das amostras em dias diferentes nas mesmas condições.

Porcentagem	Recuperado dia 1	Recuperado dia 2	Diferença de recuperação (%)
70	70,55	71,08	0,53
70	72,00	72,39	0,39
70	72,26	71,73	0,47
100	104,13	106,62	2,49
100	103,73	103,47	0,26
100	103,21	102,55	0,66
130	134,03	136,78	2,75
130	132,19	129,96	2,23
130	132,45	136,78	4,33

Fonte: Autoria própria. 2022

Pode-se observar que os valores apresentados na Tabela 3 que houve proporcionalidade para os valores de recuperados dos dias 1 e 2 para com suas respectivas porcentagens de concentração, além disso, as diferenças dos resultados encontrados em cada dia apresentaram-se com diferença de média menores do que o limite máximo de variação dos resultados, sendo este de 5 %.

6.6 Exatidão

A exatidão é a proximidade dos resultados obtidos da amostra com os resultados conhecidos para o padrão de referência utilizados, sendo calculada como porcentagem de recuperação das quantidades obtidas ou como diferença de percentual entre as médias e o valor de referência presentes na Tabela 7.

Tabela 3 - Exatidão dos resultados.

Absorbância do padrão		Teor do Padrão de referência	
	0,832		100,04%
Amostra	Absorbância	Recuperado (%)	Diferença de recuperação (%)
1	0,745	97,70	2,30
2	0,791	103,73	3,73
3	0,749	98,22	1,78
4	0,737	96,65	3,35
5	0,75	98,36	1,64

Fonte: Autoria própria. 2022

De acordo com os valores obtidos, verificou-se que os resultados não apresentaram variação de diferença de recuperação maior que 5%, bem como não se apresentaram valores fora dos limites de 90 a 100% para as porcentagens de recuperado referentes as absorbâncias das amostras.

6.7 Robustez

Para este procedimento, foram avaliados a sensibilidade dos resultados analíticos para as possíveis variações de condições experimentais encontradas no cotidiano, com a variação de micropipeta utilizada, variação de ultrassom, com aquecimento e sem aquecimento, e variação de fornecedores dos reagentes utilizados no preparo.

Foram encontrados os resultados nas absorbâncias presentes no Tabela 5 referentes a cada parâmetro de variação avaliado.

Tabela 4 - Variação dos parâmetros de metodologia para avaliação de robustez.

Parâmetros	Absorbâncias (nm)	Recuperado (%)	Diferença de recuperado (%)
Padrões	0,832	-	-
Micropipeta 1	0,756	99,14	0,86
Micropipeta 2	0,751	98,88	1,12
Ultrassom com aquecimento	0,753	98,22	1,78
Ultrassom sem aquecimento	0,764	100,19	0,19
Reagente Reatec	0,785	102,95	2,95
Reagente Neon	0,771	101,11	0,19
Espectrofotômetro com varredura PG INSTRUMENTS modelo T80+	0,798	104,65	2,95
Espectrofotômetro UV 1800 Shimadzu	0,799	104,78	1,11

Fonte: Autoria própria. 2022

Para a robustez são observados os resultados obtidos através de cálculos presentes na tabela 5 que os fatores avaliados não comprometem significativamente a veracidade dos resultados analíticos, pois não apresentaram variação maior que 5 % para a diferença de recuperado, bem como não se apresentaram valores fora dos limites de 90 a 100 % referentes aos valores de recuperado das absorbâncias obtidas, sendo este classificado como um procedimento analítico robusto e adequado para as análises de rotina.

6.8 Comparação de Metodologias

Realizou-se o teste de comparação de métodos pela metodologia descrita na farmacopeia para com a metodologia proposta, sendo avaliados o percentual de recuperado das absorbâncias de cada método bem como a diferença de recuperado entre estes, resultados estes apresentados na tabela 6.

Tabela 5 - Comparação de valores de absorbância pelo método farmacopeico e pelo método proposto.

Absorbância Método Farmacopeico (%)	Método Proposto (%)	Diferença de recuperado (%)
97,70	101,90	4,20
106,09	104,65	1,44
98,22	102,55	4,33
98,65	103,47	4,82
99,36	103,91	4,55

Fonte: Autoria própria. 2022

Pode ser observado através de cálculos que os fatores avaliados não comprometem a veracidade dos resultados analíticos, pois não apresentaram variação maior que 5 %, bem como não se apresentaram valores fora dos limites de 90 a 100 %.

Realizou um teste de hipótese estatística, teste T, este teste se dá com a obtenção de um valor padrão que é calculado a partir de dados encontrados por um teste de hipótese. Este teste se desenvolveu com o intuito de comparação da média de duas amostras sendo elas referentes aos métodos farmacopeico e o proposto sendo utilizados os dados obtidos na tabela 6, desenvolveu-se o teste estatístico na tabela 7.

Tabela 6 - Teste-t: duas amostras presumindo variâncias equivalentes.

	Variável 1	Variável 2
Média	0,76	0,79
Variância	0,0008	0,0001
Observações	5	5
Variância agrupada	0,00045	
Hipótese da diferença de média	0	
gl	8	
Stat t	-2,23607	
P(T<=t) uni-caudal	0,027883	
t crítico uni-caudal	1,859548	
P(T<=t) bi-caudal	0,055767	
t crítico bi-caudal	2,306004	

Fonte: Autoria própria. 2022

Considera-se que para um teste-T seja adequado seu valor calculado para Stat t deve ser menor do que o valor obtido para t crítico bi-caudal. Obteve-se como valores de t crítico bi-caudal 2,306004, e para Stat t -2,2607, como os valores de Stat t são menores do que o encontrado para bi-caudal, o teste estatístico encontra-se adequado para seu fim.

7 CONCLUSÃO

Desenvolveu-se uma metodologia alternativa para quantificação do insumo farmacêutico Meloxicam utilizando o método de quantificação por utilizando espectrofotometria UV/Vis.

Avaliou-se a solubilidade deste ativo em determinadas soluções, sendo determinada a substituição do solvente álcool metílico por solução tampão de hidróxido de Sódio-glicina com pH 9,0, por se tratar de uma solução de base aquosa permitiu que o desenvolvimento se desse seguindo os princípios da química verde.

Com isso, realizou-se o desenvolvimento da validação de metodologia utilizando os parâmetros de méritos requeridos exigidos pela ANVISA, sendo elas especificidade, linearidade, intervalo, repetibilidade, exatidão e robustez.

Pode-se concluir através dos resultados apresentados que o desenvolvimento se deu dentro das especificações dadas pelos critérios pré-estabelecidos para o teor de uniformidade de conteúdo de doses unitárias, estando eles dentro das especificações de (90 % a 110 %) de recuperação de amostras preparadas a 100 % de sua concentração, descritos na Farmacopeia Brasileira (2010), estando eles dentro das especificações.

Por fim, comparou-se estatisticamente a metodologia proposta com a já amplamente utilizada pela literatura, estando seus dados de acordo com os requisitos estabelecidos, a metodologia proposta se comportou adequadamente em todos os parâmetros necessários para o seu desenvolvimento adequado, estando apta para ser utilizada como método de quantificação de Meloxicam.

REFERÊNCIAS

ANVISA. Resolução--rdc nº 15, de 15 de março de 2012. Disponível em:

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2012/rdc0015_15_03_2012.html. p 1-13.

Acesso em: 11 Marc. 2022.

ANVISA. Resolução-rdc nº 200, de 26 de dezembro de 2017a. ANVISA. Disponível em:

[https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/2198623/do1-](https://www.in.gov.br/materia/-/asset_publisher/Kujrw0TZC2Mb/content/id/2198623/do1-2018-01-29-resolucao-rdc-n-200-de-26-de-dezembro-de-2017--2198619)

2018-01-29-resolucao-rdc-n-200-de-26-de-dezembro-de-2017--2198619. Acesso em: 15 Abr.

2022.

ANVISA. Resolução-rdc nº 166, de 24 de julho de 2017b. ANVISA. Acesso em: 12 Abr.

2022.

ANVISA. Resolução-re nº 899, de 29 de maio de 2003. ANVISA. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos métodos analíticos.

https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2003/res0899_29_05_2003.html. Acesso em:

DRUGBANK. Meloxicam. Drugbank online. Novembro 2022. Disponível em:

<https://go.drugbank.com/drugs/DB00814>.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Volume 1, 5º

edição. Brasília, 2010. Disponível em: [https://www.gov.br/agricultura/pt-](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/farmacopeia_volume-1_2010.pdf)

[br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/farmacopeia_volume-1_2010.pdf)

[bebidas/farmacopeia_volume-1_2010.pdf](https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/inspecao/produtos-vegetal/legislacao-1/biblioteca-de-normas-vinhos-e-bebidas/farmacopeia_volume-1_2010.pdf). Acesso em: 08 Marc. 2022.

FERNANDES, P. R. T. Desenvolvimento Farmacotécnico e Validação de Metodologia

analítica para comprimidos revestidos à base de Diclofenaco de Potássio. Dissertação de

Mestrado. Agosto de 2003. p. 1-74. Disponível em:

<https://repositorio.ufpe.br/handle/123456789/3416>

FISPQ – Ficha de Informações de Segurança de Produto Químico. Nº 044, Revisão 06.

Agosto de 2012. Disponível em:

[https://www.santos.sp.gov.br/static/files_www/conteudo/DadosAbertos/FISPQ%20Metanol.p](https://www.santos.sp.gov.br/static/files_www/conteudo/DadosAbertos/FISPQ%20Metanol.pdf)

[df](https://www.santos.sp.gov.br/static/files_www/conteudo/DadosAbertos/FISPQ%20Metanol.pdf)

HARRIS. Análise Química Quantitativa, 9ª edição. Disponível em: Minha Biblioteca, Grupo

GEN, 2017. p. 476-513. Disponível em: Minha Biblioteca, Grupo GEN, 2017.

LANG, KELINE, ET AL. Controle de Qualidade de Insumos e Produtos Farmacêuticos.

Disponível em: Minha Biblioteca, Grupo A, 2021. Disponível em: Minha Biblioteca, Grupo A, 2021. p. 21-53.

MACHADO, THIAGO, C. Solubilidade e Estabilidade Termodinâmica de Cocrystalis de Meloxicam. Dissertação de Mestrado. Florianópolis, Março de 2016. p. 1-164. Disponível em: <file:///C:/Users/usu%C3%A1rio/Downloads/341095.pdf>

NELSON, David L.; COX, Michael M. Princípios de Bioquímica de Lehninger. Grupo A, 2019. E-book. ISBN 9788582715345. P. 63-65. Disponível em: [https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582715345/..](https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582715345/)

PRADO, G. S. Química Verde, os Desafios da Química do Novo milênio. Instituto de Química, Universidade de Brasília. Março de 2003. p. 1-7. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/Lr7DQT8pwNDfDPYJ53DwH6J/?format=pdf&lang=pt>

ROSA, M. F.; VILHENA, R. O.; Dissolução Intrínseca: conceito e aplicações na indústria farmacêutica. Revista eletrônica de Farmácia, de 12 de dezembro de 2011. p 1-13. Disponível em: <https://revistas.ufg.br/index.php/REF/article/view/17746>

USP. Pharmacopeia National Formulary, USP 42 NF 42, Volume 2. 2019. P. 2720-2724
Disponível em: <https://www.usp.org/> Acesso em: 17 Mai. 2022.

VOGEL, ARTHUR I. Análise Química Quantitativa. p. 2-176. Disponível em: Minha Biblioteca, (6ª edição). Grupo GEN, 2002.