

## DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA DOSEAMENTO DE MEBENDAZOL MATÉRIA-PRIMA

**SILVA**, Ezequiane Machado<sup>1</sup> ; **DUARTE**, Livia Teixeira<sup>1</sup> ; **SOUSA**, Andrezza Lopes<sup>1</sup> ; **LOPES**, Emília Ferreira<sup>2</sup> ; **MORAIS**, Hanna Lopes<sup>2</sup>; **BARA**, Maria Teresa Freitas<sup>3</sup> .

Palavras-chave: Validação, mebendazol, doseamento, controle de qualidade.

### 1. INTRODUÇÃO

O mebendazol é um fármaco, derivado benzimidazólico, utilizado como anti-helmíntico com elevada eficácia e tolerabilidade, além de um amplo espectro de ação contra nematóides (*A. lumbricoides*, *Trichocephalus trichiurus*, *Enterobius vermicularis*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*) e cestóides (*Taenia solium* e *Taenia saginata*) (SILVA, 2006).

A monografia do mebendazol está presente na Farmacopéia Brasileira 4ª Edição (2001), na qual o doseamento é feito por titulação em meio não aquoso. Considera-se que o método titulométrico possui menor sensibilidade e pode sofrer maior número de interferências envolvendo a preparação e padronização dos reagentes.

Para garantir que um método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra ele deve sofrer uma avaliação denominada validação (RIBANI et al., 2004). O objetivo de uma validação é demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida (BRASIL, 2003), garantindo por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas assegurando a confiabilidade dos resultados. Para tanto, deve apresentar especificidade, linearidade, intervalo, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e robustez adequados à análise. Tendo em vista que todo método desenvolvido e não descrito em farmacopéia ou formulários oficiais deve ser validado (BRASIL, 2003), o presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento e validação de uma metodologia espectrofotométrica para o doseamento de mebendazol em matérias-primas.

### 2. METODOLOGIA

#### 2.1 . Material

Para as etapas que corresponderam ao desenvolvimento do método e sua validação, foram utilizados: substância de referência mebendazol obtida junto à Farmacopéia Brasileira, apresentando teor de 100,0% e matéria-prima de mebendazol gentilmente cedida por fornecedor idôneo, na qual foram realizados testes de identificação por espectrofotometria de infra-vermelho e ponto de fusão. Os reagentes utilizados no estudo foram: ácido fórmico 99% (Acros Organics) e etanol absoluto grau UV/HPLC (J.T.Baker). Toda vidraria utilizada foi certificada.

#### 2.2 . Equipamentos e condições analíticas

As amostras foram preparadas em ácido fórmico e etanol, com uma proporção final de 0,12:100. Foram empregados espectrofotômetros de 2 marcas distintas: B582 . Micronal e Cary 50 . Varian.O comprimento de onda de leitura foi de 310 nm, utilizando etanol absoluto para ajuste do zero.

### 2.3 . Estudo da validação

Os parâmetros avaliados foram: Especificidade, Linearidade, Intervalo, Precisão, Limite de detecção, Limite de quantificação, Exatidão e Robustez.

2.3.1 . Especificidade - Foi realizada uma varredura das soluções amostra, padrão e solvente (branco), na faixa de 200 a 800 nm, para verificar a existência de interferências dos demais componentes presentes na solução amostra.

2.3.2 . Linearidade - Foi construída curva de calibração (em duplicata) em cinco pontos: 50%, 75%, 100%, 125% e 150% em relação à concentração de trabalho (0,01mg/mL), para verificar a correspondência entre as absorvâncias e as respectivas concentrações das soluções amostra expressa pelo coeficiente de correlação. Considerou-se satisfatório um  $r \geq 0,99$ .

2.3.3 . Intervalo - O intervalo para quantificação foi obtido através do estudo da linearidade, tendo em vista a finalidade do método.

2.3.4 . Precisão - A precisão foi avaliada nos níveis de repetibilidade e de precisão intermediária e expressa através de coeficiente de variação. A repetibilidade foi verificada em 6 réplicas com concentração de 0,01mg/mL. A precisão intermediária foi realizada da mesma forma, em dois dias diferentes por analistas diferentes. Considerou-se satisfatório um DPR de até 5% (BRASIL, 2003).

2.3.5 . Limite de detecção e quantificação - O limite de quantificação foi estabelecido através de curva de calibração (em triplicata) nas concentrações 0,5%, 1%, 2,5%, 5% e 10%, aplicando-se as fórmulas para LD e LQ presentes na legislação sanitária vigente (BRASIL, 2003).

2.3.6 . Exatidão - A exatidão foi obtida através da análise de recuperação nas concentrações baixa (50%), média (100%) e alta (150%), sendo realizada em triplicata para cada concentração. Considerou-se internamente como satisfatória uma recuperação entre 95% a 105%.

2.3.7 . Robustez - A robustez foi testada variando-se a marca do espectrofotômetro e o comprimento de onda de leitura da solução amostra em  $\pm 2$  nm.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método apresentou-se específico, pois foram observados picos de absorvância no comprimento de onda 311 nm para o padrão e a amostra, não sendo observado pico significativo na varredura do solvente.

Estabeleceu-se um intervalo linear entre as concentrações de 0,005mg/mL a 0,0151mg/mL

(FIGURA 1), obtendo-se a equação da reta  $y = 45,155x + 0,0186$  e  $r$  de 0,9998.

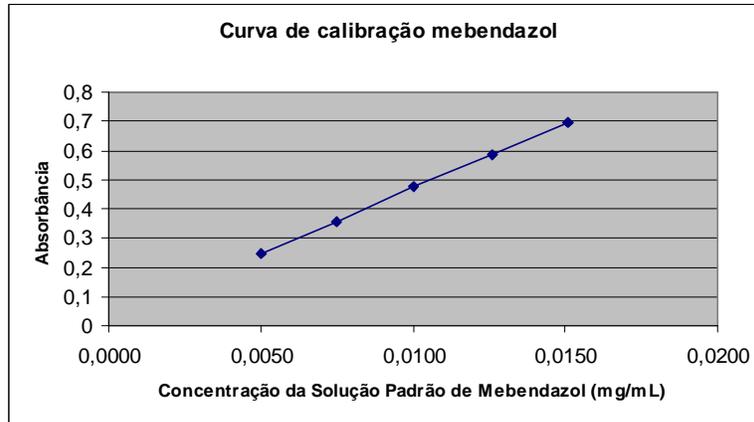


FIGURA 1: Curva de Calibração para Mebendazol.

O método mostrou-se preciso, obtendo-se DPR de 0,82 e 1,30 para a repetibilidade e a precisão intermediária, respectivamente.

O LD e o LQ obtidos foram de  $6,63 \times 10^{-6}$  mg/mL e  $2,21 \times 10^{-6}$ , respectivamente. Entretanto, salienta-se que estes parâmetros não são preconizados pela legislação para testes quantitativos de determinação do princípio ativo em produtos farmacêuticos e matérias-primas.

A recuperação para as amostras de concentração alta, média e baixa foi de 97,39%; 102,76%; e 103,88%, como mostra a TABELA 1.

TABELA 1: Recuperação em Soluções Amostra de Mebendazol Matéria-Prima . LCQM . UFG . 2007.

Determ.	Massas pesadas (mg)	Concentração teórica da amostra (mg/mL)	Concentração real da amostra (mg/mL)	Recuperação (%)	Absorbâncias	Média recuperação (%)	DP	DPR	Recuperação (mg/mL)
D_1	50,1	0,00501	0,00486	96,98	0,2380				0,0049
D_2	50,0	0,00500	0,00491	98,28	0,2405	97,3867	0,7781	0,80	0,0049
D_3	50,1	0,00501	0,00485	96,89	0,2378				0,0049
D_4	100,2	0,01002	0,01020	101,76	0,4790				0,0102
D_5	100,3	0,01003	0,01036	103,24	0,4862	102,7610	0,8702	0,85	0,0104
D_6	100,8	0,01008	0,01041	103,28	0,4887				0,0104
D_7	150,2	0,01502	0,01562	104,01	0,7240				0,0156
D_8	150,2	0,01502	0,01569	104,48	0,7272	103,88	0,6779	0,65	0,0157
D_9	150,3	0,01503	0,01550	103,14	0,7186				0,0155

Os resultados da análise de robustez estão dispostos na TABELA 2:

TABELA 2: Robustez do método de análise de mebendazol matéria-prima.

Parâmetro	Absorbância	Média	DP	DPR
	308	0,4765		
(nm)	310	0,4833	0,477367	0,005551
	312	0,4723		1,162833
Equipamento	Espectrof. 1	0,4833		
	Espectrof. 2	0,476	0,47965	0,005162
				1,076176

#### 4. CONCLUSÃO

O método proposto é válido para o doseamento de mebendazol matéria-prima por apresentar especificidade, linearidade, precisão, exatidão e robustez adequados à

análise em questão, sendo uma alternativa ao método titulométrico proposto pela Farmacopéia Brasileira.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); *Resolução RE Nº 899*, de 29 de maio de 2003.

SILVA, P. *Farmacologia*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2006.

RIBANI, M.; BOTOLLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, J. C. S. F; MELO, L. F. C. Validação em Métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*. v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

BECK, R. C. R.; CARDOSO, S. G.; ATHAYDE, M. L.; CODEVILLA, C.; OLIVEIRA, F. K.; DALMORA, S. L. Validação de método por cromatografia líquida de alta eficiência para determinação de lamivudina e zidovudina em comprimidos. *Química Nova*. v. 30, n. 5, p.1225-1228, 2007.

---

<sup>1</sup>Farmacêutica do Laboratório de Controle de Qualidade de Medicamentos . Faculdade de

<sup>2</sup>Farmácia . Universidade Federal de Goiás . ezequisilva@bol.com.br

Bolsita do LCQM . FF . UFG

<sup>3</sup>Coordenadora do LCQM . FF . UFG . lcqm@farmacia.ufg.br