

Biomedicina e Farmácia: Aproximações 2

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes
Tiago Sousa Melo
(Organizadores)



Atena
Editora

Ano 2019

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes
Tiago Sousa Melo
(Organizadores)

Biomedicina e Farmácia: Aproximações 2

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Natália Sandrini e Lorena Prestes

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

B615 Biomedicina e farmácia [recurso eletrônico] : aproximações 2 /
Organizadores Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes, Tiago
Sousa Melo. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2019. –
(Biomedicina e Farmácia; v. 2)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-323-1

DOI 10.22533/at.ed.231191504

1. Biomedicina. 2. Ciências médicas. 3. Farmácia. I. Lopes,
Letícia Bandeira Mascarenhas. II. Melo, Tiago Sousa. III. Série.

CDD 610

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de
responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos
autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Farmácia e Biomedicina integram o time das ciências da saúde que constituem nas áreas que estudam sobre a vida, a saúde e a doença. No qual focam na manutenção e na melhoria da saúde para o indivíduo, grupos específicos e comunidades.

A obra “Biomedicina e Farmácia: Aproximações” consiste de uma série de livro (E-book) de publicação da Atena Editora, em seus 28 capítulos de artigos científicos do volume I, a qual abordam temáticas atualizadas de diferentes âmbitos que vão desde relatos de casos até a análise de medicamentos, plantas e microbiologia, entre outros.

Sendo assim, almejamos que este livro possa contribuir com informações pertinentes e atualizadas para os estudantes e profissionais da área de farmácia e biomedicina, oportunizando a ampliação dos conhecimentos sobre o tema.

Desejamos a todos uma boa leitura!

Letícia Bandeira Mascarenhas Lopes

Tiago Sousa Melo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1	1
A IMPORTÂNCIA DA ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA PRESTADA AOS PORTADORES DE DIABETES MELLITUS TIPO 1	
Gisele Lopes Cavalcante	
Maria Camila Leal de Moura	
José Virgulino de Oliveira Lima	
Yara Maria da Silva Pires	
Aline Suelen Silva Maria	
Ana Rita de Sousa França	
Izabela Borges de Carvalho	
Polyanna dos Santos Negreiros	
DOI 10.22533/at.ed.2311915041	
CAPÍTULO 2	15
ANÁLISE BACTERIOLÓGICA DE QUEIJOS ARTESANAIS COMERCIALIZADOS NAS FEIRAS LIVRES DO MUNICÍPIO DE CARUARU-PE	
Jucélia Ivonete dos Santos	
Valéria da Silva Tabosa	
Agenor Tavares Jácome Júnior	
DOI 10.22533/at.ed.2311915042	
CAPÍTULO 3	26
ANÁLISE DA EFICÁCIA DE PROGRAMAS DE CONTROLE DA DENGUE NO MUNICÍPIO DE BOA VISTA DO ESTADO DE RORAIMA	
Fabiana Nakashima	
Ítallo de Souza Almeida	
Tulio Marroquim Galvão	
Iran Barros de Castro	
Nathalia Bittencourt Graciano	
Isabella Maravalha Gomes	
Ana Iara Costa Ferreira	
Bianca Jorge Sequeira Costa	
Leila Braga Ribeiro	
Wagner do Carmo Costa	
Fabiana Zimmermann dos Santos	
Luis Enrique Galan Bermejo	
Rodrigo de Barros Feltran	
DOI 10.22533/at.ed.2311915043	
CAPÍTULO 4	34
ANÁLISE DO PERFIL DOS PACIENTES SUBMETIDOS AO EXAME DE MICROALBUMINÚRIA REALIZADO NO LABORATÓRIO CENTRAL DE BIOMEDICINA NO PRIMEIRO TRIMESTRE DE 2018	
Flávia Karen Carvalho Garcia	
Marcos Emanuel Vilanova da Costa	
Jessica Santana de Oliveira	
Layanne Barbosa dos Santos	
Larissa Lisboa Rêgo Brito	
Rachel Freire Boaventura	
DOI 10.22533/at.ed.2311915044	

CAPÍTULO 5 40

ANÁLISE HISTOQUÍMICA DA LÂMINA FOLIAR DE *Azadirachta indica* A.Juss

Rafaela Damasceno Sá
Felipe Ribeiro da Silva
Girllene da Silva Cavalcanti
Karina Perrelli Randau

DOI 10.22533/at.ed.2311915045

CAPÍTULO 6 46

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DA GOMA DE MANDIOCA COMERCIALIZADA NA FEIRA LIVRE DO BAIRRO ALVORADA II NA CIDADE DE MANAUS-AM

Uziel Ferreira Suwa
Elias da Silva Lemos
Andreia Ferreira Silva

DOI 10.22533/at.ed.2311915046

CAPÍTULO 7 53

APROVEITAMENTO DA SEMENTE DE ABÓBORA (*Cucurbita moschata*) NO DESENVOLVIMENTO DE CREME HIDRATANTE ESFOLIANTE

Mariana Gavioli dos Reis Pena
Tatiane Amorim Lima
Marcone Augusto Leal de Oliveira
Guilherme Diniz Tavares
Fabiano Freire Costa
Paula Rocha Chellini

DOI 10.22533/at.ed.2311915047

CAPÍTULO 8 68

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS DE USO POPULAR NO BRASIL: CAMOMILA (*MATRICARIA CHAMOMILLA*), ERVA DOCE (*PIMPINELLA ANISUM*) E JUCÁ (*CAESALPINIA FERREA*)

Caroline Mendes Santos
Carina Assis Lima Da Silva
Carolina Azevedo Amaral
Joyce dos Santos Brasil
Daniela Soares Leite

DOI 10.22533/at.ed.2311915048

CAPÍTULO 9 82

ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE PLANTAS DE USO POPULAR NO BRASIL: GOIABA (*PSIDIUM GUAJAVA* L.) E MELÃO DE SÃO CAETANO (*MOMORDICA CHARANTIA*)

Daniela Soares Leite
Caroline Mendes Santos
Carina Assis Lima Da Silva
Carolina Azevedo Amaral

DOI 10.22533/at.ed.2311915049

CAPÍTULO 10 93

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DA FOLHA DE *Bauhinia forficata* Link (PATA DE VACA)

Clara Santos Shen
Eduarda dos Santos Lima
Mariana Oliveira Arruda

DOI 10.22533/at.ed.23119150410

CAPÍTULO 11 104

AVALIAÇÃO DA CITOXIDADE, MUTAGENICIDADE E TOXICIDADE DO EXTRATO ETANÓLICO DOS FRUTOS DO *Lycium barbarum* (GOJI BERRY) POR MÉTODOS *Allium cepa* EM CÉLULAS EUCARIONTES

Ogenya Rafaela Bispo de Souza
Francisca dos Santos
Manoel Pinheiro Lúcio Neto

DOI 10.22533/at.ed.23119150411

CAPÍTULO 12 114

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO RASTREIO DA TOXOPLASMOSE DURANTE A GESTAÇÃO EM RORAIMA

Jéssyca Magalhães de Matos
Wagner do Carmo Costa
Ana Iara Costa Ferreira
Fabiana Nakashima
Leila Braga Ribeiro
José Geraldo Ticianeli
Camila Sampaio Florença Santana
Allaelson dos Santos de Moraes
Gabriela Moraes Gomes
Fernanda Zambonin
Bianca Jorge Sequeira

DOI 10.22533/at.ed.23119150412

CAPÍTULO 13 127

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DOS HEMOCOMPONENTES NO HEMOCENTRO COORDENADOR DE SERGIPE

Flávia Karen Carvalho Garcia
Fátima de Jesus Santos
Jéssica Araújo Menezes
Larissa Lisboa Rêgo Brito
João Victor Ferreira Santana
Raphael Davisson Lopes Santos
Weber De Santana Teles

DOI 10.22533/at.ed.23119150413

CAPÍTULO 14 139

AVALIAÇÃO DO PERFIL DE ANEMIAS EM EXAMES HEMATOLÓGICOS DE UMA POPULAÇÃO ATENDIDA POR PROJETO SOCIAL E SUA CORRELAÇÃO COM VALORES DE REFERÊNCIA

Gleice dos Anjos Santos
Athos de Barros Vieira
Jonas Alves Paiva
Maria Helena Rodrigues De Mendonça

DOI 10.22533/at.ed.23119150414

CAPÍTULO 15 152

AVALIAÇÃO FENOTÍPICA E GENOTÍPICA DE ISOLADOS DO COMPLEXO *Candida parapsilosis* CAUSADORES DE CANDIDEMIA NO HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO (HC-FMRP)

Márcia Eliana da Silva Ferreira
Heliara Maria Spina Canela
Bárbara Cardoso

DOI 10.22533/at.ed.23119150415

CAPÍTULO 16 169

BIORREMEDIAÇÃO DE MANGUEZAL CONTAMINADO COM PETRÓLEO COM OBTENÇÃO DE ATIVIDADE ANTIMICROBIANA EM BIOPOLÍMEROS E PEPTÍDIOS CRISTALIZADOS

Odete Gonçalves
Paulo Fernando de Almeida
Cristina Maria A. L. T. M. H. Quintella
Ana Maria Álvares Tavares da Mata

DOI 10.22533/at.ed.23119150416

CAPÍTULO 17 186

BIOTECHNOLOGICAL APPLICATIONS OF THE YEAST CELL WALL WITH EMPHASIS ON THE DEVELOPMENT OF FEED ADDITIVES

Carina Maricel Pereyra
Mariana Angélica Montenegro
Lilia Reneé Cavaglieri

DOI 10.22533/at.ed.23119150417

CAPÍTULO 18 204

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DA LÂMINA FOLIAR DE *Calotropis procera* (Aiton) W.T.Aiton

Rafaela Damasceno Sá
Adolfo Santos da Silva
Deysielle Maria dos Santos
Karina Perrelli Randau

DOI 10.22533/at.ed.23119150418

CAPÍTULO 19 211

CARACTERIZAÇÃO ANATÔMICA E HISTOQUÍMICA DE *Schinus molle* L.

Luciano de Medeiros Dantas
Rafaela Damasceno Sá
Larisse Bianca Soares Pereira
Karina Perrelli Randau
Flávia Carolina Lins da Silva

DOI 10.22533/at.ed.23119150419

CAPÍTULO 20 223

CARACTERIZAÇÃO FARMACOGNÓSTICA E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CLAE-DAD PARA *FINGERPRINT* DE COMPOSTOS FENÓLICOS EM *Alternanthera brasiliana*

José Marcos Teixeira de Alencar Filho
Hyany Andreysa Pereira Teixeira
Iure Silva de Carvalho
Pedrita Alves Sampaio
Emanuella Chiara Valença Pereira
Isabela Araujo e Amariz
Larissa Araújo Rolim
Edigênia Cavalcante da Cruz Araújo

DOI 10.22533/at.ed.23119150420

CAPÍTULO 21 235

CARACTERIZAÇÃO FITOQUÍMICA DE PLANTAS DO SEMIÁRIDO NORDESTINO COM POTENCIAL ATIVIDADE ANTIMICROBIANA

Ítalo da Silva Batista
Francinalva Dantas de Medeiros

DOI 10.22533/at.ed.23119150421

CAPÍTULO 22 244

COMPOSIÇÃO QUÍMICA, ATIVIDADE ANTIOXIDANTE E FOTOPROTETORA DOS EXTRATOS DE *Averrhoa carambola* L.

Tálison Taylon Diniz Ferreira
Orlene Nascimento da Silva
Jéssyca Wan Lume da Silva Godinho
Kleyton Santos Veras
Denise Fernandes Coutinho
Flavia Maria Mendonça do Amaral

DOI 10.22533/at.ed.23119150422

CAPÍTULO 23 256

CONHECIMENTO DE MULHERES USUÁRIAS DE UMA UNIDADE DE ESTRATÉGIA DE SAÚDE DA FAMÍLIA SOBRE A TRICOMONÍASE

Jessé Alves de Souza
Laís Marques da Silva Pedrosa
Evilma Nunes de Araújo
Alecio Marcelo Lima Dos Santos
Paulyanne Karlla Araújo Magalhães
Thiago José Matos Rocha

DOI 10.22533/at.ed.23119150423

CAPÍTULO 24 266

CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS A BASE DE ANTI-INFLAMATÓRIOS NÃO ESTEROIDAIAS

Mariana Ribeiro Gonçalves Cordeiro Cruz
Bianca da Silva Cardoso
Luiza Helena Nascimento Lopes
Nadjanayra Soares Rodrigues
Nathália Gonçalves Silva
Thaís Silva Pires
Tálison Taylon Diniz Ferreira
Maria dos Remédios Mendes de Brito
Angélica Gomes Coelho

DOI 10.22533/at.ed.23119150424

CAPÍTULO 25 275

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DA SITAGLIPTINA POR CLAE

Bruna de Carvalho Mapa
Jacqueline de Souza
Iara Devula Tiso Tana
Débora dos Santos da Silva
Neila Márcia Silva-Barcellos

DOI 10.22533/at.ed.23119150425

CAPÍTULO 26 287

DETECÇÃO, ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE DERMATÓFITOS EM UTENSÍLIOS DE CENTROS DE ESTÉTICA DA CIDADE DE MACEIÓ, ALAGOAS

Bárbara Letícia Figueiredo Fonseca
Marcus Vinícius de Andrade Silveir
Caroline Fernanda Andrade Gomes
Camila Neves de Melo Cavalcanti
Aryanna Kelly Pinheiro Souza
Gabriela Souto Vieira de Mello
Marina Valdez dos Santos
Ana Paula de Almeida Portela da Silva

DOI 10.22533/at.ed.23119150426

CAPÍTULO 27 293

DIVERSIDADE GENÉTICA DOS PAPILOMAVÍRUS HUMANOS DE ALTO RISCO 16, 53 E 66 EM ALAGOAS, BRASIL

Karwhory Wallas Lins da Silva
Márcia Adriana Pessoa de Oliveira Esteves
Sâmea Keise de Oliveira Silva
Velber Xavier Nascimento

DOI 10.22533/at.ed.23119150427

SOBRE OS ORGANIZADORES..... 305

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DA SITAGLIPTINA POR CLAE

Bruna de Carvalho Mapa

Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Ouro Preto/MG

Jacqueline de Souza

Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Ouro Preto/MG

Iara Devula Tiso Tana

Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Ouro Preto/MG

Débora dos Santos da Silva

Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Ouro Preto/MG

Neila Márcia Silva-Barcellos

Universidade Federal de Ouro Preto, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Ouro Preto/MG

RESUMO: O antidiabético oral (ADO) sitagliptina, um inibidor da dipeptidil peptidase 4, merece destaque entre as outras farmacoterapias do Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) por promover, além do controle glicêmico, baixa incidência de efeitos colaterais e a capacidade de estimular o crescimento das células β -pancreáticas e com isso regressão da doença. Para avaliar a qualidade e prever o comportamento in vivo de fármacos, a avaliação biofarmacêutica é uma

etapa de grande relevância. Neste sentido, a determinação da solubilidade em equilíbrio pelo método da agitação orbital em frascos tem sua relevância reconhecida por diferentes agências regulatórias. Visando estudar a solubilidade da sitagliptina em diferentes condições de pH, torna-se necessário o desenvolvimento de método analítico adequado. Assim, este trabalho se propôs a desenvolver e validar método para quantificação da sitagliptina por Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência para ser aplicado no estudo biofarmacêutico de determinação da solubilidade em equilíbrio.

ABSTRACT: The oral antidiabetic (ADO) sitagliptin, an inhibitor of dipeptidyl peptidase 4, is worth mentioning in pharmacotherapies of Type 2 Diabetes Mellitus. It promotes, in addition to glycemic control, a disease regression by stimuli of the growth of β -pancreatic cells, as well as a low incidence of side effects. To evaluate the drug quality and predict its in vivo behavior it is important a biopharmaceutical evaluation. In this sense, the determination of the solubility in equilibrium by the shake-flask method has its relevance recognized by different regulatory agencies. In order to study the solubility of sitagliptin in different pH conditions, it is necessary to develop an adequate analytical method. Thus, this work aimed to develop and validate a method for the

sitagliptin quantification by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) to be applied in the it's equilibrium solubility study.

1 | INTRODUÇÃO

O DM2 é uma das doenças de maior prevalência no mundo e as consequências sociais e econômicas devido a esse alto índice, à sua condição crônica, à gravidade de suas complicações e aos custos envolvidos no controle e tratamento apontam o alto ônus dessa patologia (ADA, 2017; IDF, 2015) e a necessidade de terapias eficazes, seguras e apropriadas ao uso a longo prazo (SBD,2017).

Além do manejo nos hábitos alimentares e na prática de atividade física, a terapia medicamentosa é essencial aos pacientes com DM2 (SBD,2017). Nesse sentido a sitagliptina, um representante da classe dos Inibidores da dipeptilpeptidase 4 (IDPP4) vem se destacando dentre as outras farmacoterapias do DM2 por promover, além do controle glicêmico (SCOTT, 2010; RETNAKARAN, 2010; RAZ , 2008; KIM, 2016), baixa incidência de efeitos colaterais (SCHWEIZER et al., 2007) e a capacidade de estimular o crescimento das células β -pancreáticas e com isso (ANSARULLAH et al., 2013) e com isso a possibilidade de regressão da doença.

No entanto, apesar de diversos benefícios associados ao uso da sitagliptina, grande parte da população não dispõe de recursos para ter acesso a esse medicamento, devido a seu alto custo, principalmente quando comparado aos ADOs clássicos.

Para avaliar a qualidade e prever o comportamento in vivo de diferentes medicamentos contendo Sitagliptina, os estudos biofarmacêuticos como solubilidade, permeabilidade e dissolução são uma etapa de grande relevância.

Nesse sentido, método da agitação orbital em frascos visando a determinação da solubilidade em equilíbrio do fármaco, é um dos métodos in vitro que simulam o comportamento in vivo do fármaco e tem sua relevância reconhecida por diferentes agências regulatórias (FDA, 2000; WHO, 2006; EMA, 2010; BRASIL, 2011).

Com o objetivo de contribuir com dados de solubilidade da sitagliptina em condições fisiológicas, torna-se necessário o desenvolvimento de método analítico, adequado a quantificação do analito nesta matriz, devidamente validado conforme todos parâmetros estabelecidos pela legislação vigente.

Foram encontrados na literatura poucos métodos analíticos de quantificação da sitagliptina, em especial por Cromatografia a Líquido de alta eficiência (CLAE) (LANGE, 2014; RAVANELLO, 2010; UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2016). Esta técnica é realizada a partir de interações seletivas entre o analito, fase estacionária (FE) e fase móvel (FM). As substâncias que apresentam maior afinidade pela FE eluirão mais tardiamente quando comparadas às substâncias que exibirem menor afinidade pela FE (SNYDER, KIRKLAND, GLAJCH, 1973). Por meio dessa técnica é possível obter separação, identificação e quantificação de substâncias de maneira seletiva (SKOOG et al., 2006), o que traz maior confiabilidade aos resultados obtidos.

Neste contexto, um método analítico por CLAE foi desenvolvido e validado para quantificação do fosfato de sitagliptina nos experimentos de solubilidade em equilíbrio, visando contribuir para a previsão do seu comportamento in vivo a partir de dados in vitro (FDA, 2000; WHO, 2006; EMA, 2010; BRASIL, 2011).

2 | MATERIAIS

O padrão de referência e a matéria-prima de fosfato de sitagliptina (sitagliptina) foram obtidos da United States Pharmacopoeia (lote F030N0) e Xiamen (lote 123000-160101) respectivamente. Ácido acético glacial (Rio de Janeiro, Brasil), ácido clorídrico (Rio de Janeiro, Brasil), fosfato de potássio monobásico (Diadema, Brasil), acetato de sódio trihidratado (Rio de Janeiro, Brasil), cloreto de sódio (Rio de Janeiro, Brasil) hidróxido de sódio (Rio de Janeiro, Brasil). O grau HPLC de acetonitrila e metanol foram adquiridos à JTBaker (Xalostoc, México). A água obtida a partir de um sistema de purificação Millipore (Darmstadt, Alemanha).

3 | MÉTODOS

3.1 Desenvolvimento de método por CLAE para quantificação da sitagliptina

Determinação das condições de análise

Inicialmente foram analisados compêndios oficiais e publicações científicas com objetivo de selecionar métodos analíticos para quantificação por CLAE do fosfato de sitagliptina para serem usadas como referenciais no desenvolvimento do método aplicável à quantificação deste fármaco nos seguintes meios biorrelevantes Fluido gástrico simulado sem enzimas (FGSSE) pH 1,2; Tampão acetato (TA) pH 4,5 e Suco entérico simulado sem enzimas (SESSE) pH 6,8.

Após a determinação dos parâmetros de adequação do sistema cromatográfico nas diferentes condições experimentais foram selecionadas e definidas as condições analíticas que possibilitaram melhores resultados.

Todas as análises foram realizadas utilizando o cromatógrafo a líquido modelo UHPLC Dionex Ultimate 3000 (Thermo Science®) com detector UV, coluna cromatográfica Zorbax C18 (150 x 4,6 mm; 5 µm), da marca Agilent®, com forno na temperatura de 25°C e volume de injeção de 20 µL.

Foram utilizadas diferentes constituições e proporções de fases móveis (FM): Metanol: água; acetonitrila: água; Acetonitrila: Tampão fosfato de potássio (pH 2), nas proporções (50:50, 60:40, 70:30, 85:75 v/v), Acetonitrila: Tampão fosfato de potássio (pH 3), nas mesmas proporções e Acetonitrila: Tampão fosfato de potássio (pH 6,8), nas proporções 70:30 e 68:32. Para definição da fase móvel, foram avaliados o tempo

de retenção e a assimetria do pico do fosfato de sitagliptina. Foram também avaliadas vazões de fase móvel de 1,0 mL/min e 1,2 mL/min.

Preparo das soluções Estoque e diluídas e dos meios biorrelevantes

Para a solução estoque (SE) foi obtida uma concentração 2,5 mg/mL de fosfato de sitagliptina diluída na FM escolhida.

Os seguintes meios tamponados: fluido gástrico simulado sem enzimas (pH 1,2), tampão acetato (pH 4,5) e fluido intestinal simulado sem enzimas (pH 6,8) foram preparados de acordo com a Farmacopeia Americana (United States Pharmacopoeia 37th edition) (USP, 2015).

As soluções diluídas foram preparadas a partir de diluição da SE nos meios biorrelevantes FGSSE (pH 1,2), TA (pH 4,5) e SESSE (pH 6,8), filtradas unidades filtrantes Millex® de 0,45 µm e introduzidas em vials.

3.2 Validação do método analítico para quantificação da sitagliptina

O método analítico foi validado conforme a Resolução RE 899 de 29 de maio de 2003 da ANVISA (BRASIL, 2003c) a qual estabelece a avaliação dos parâmetros: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limites de detecção e de quantificação (teóricos) e robustez. Para tanto, foi utilizado fosfato de sitagliptina SQR e a determinação realizada em cada um dos três meios biorrelevantes em estudo, em triplicata e para análise dos cálculos foi utilizado o *software Microsoft Excel®* 2016.

Seletividade

As soluções diluídas do fosfato de sitagliptina (150 µg/mL) nos meios biorrelevantes foram expostas ao calor seco (90°C por 24 horas), à hidrólise ácida (ácido clorídrico), e à hidrólise básica (hidróxido de sódio). Foi avaliada a pureza de pico no Cromatógrafo Waters Alliance 2695, com detector DAD.

Linearidade

Para o critério de linearidade foram analisadas as curvas analíticas de 6 concentrações diferentes do fosfato de sitagliptina (50, 70, 90, 110, 130, 150 µg/mL) para cada um dos meios biorrelevantes FGSSE, TA e SESSE.

Precisão

As precisões intracorrída e intercorrída foram avaliadas nos níveis de concentração: baixo, médio e alto (50, 110, 150 µg/mL) no entanto a precisão intrecorrída foi realizada em dois dias seguidos, totalizando 18 determinações. Foi realizado o cálculo do desvio

padrão relativo, o qual deve apresentar valor inferior a 5 % (BRASIL, 2003c).

Exatidão

A exatidão foi determinada medindo-se a recuperação da substância de referência em triplicata, nos níveis de concentração baixo, médio e alto, nos 3 meios biorrelevantes e adotados como critério os resultados contidos entre 98% a 102% (JENKE, 1996; GREEN, 1996).

Limite de quantificação (LQ) e limite de detecção (LD)

Os limites de quantificação e detecção foram estimados através do cálculo preconiza RE 899 de 2003 da ANVISA (BRASIL, 2003c). Essa estimativa teve como embasamento a média das inclinações, utilizando os dados das curvas analíticas, e o desvio padrão do intercepto de três curvas analíticas obtidas.

Robustez

A robustez foi avaliada conforme os seguintes fatores: variação na proporção dos constituintes da fase móvel - ACN: Tampão fosfato de potássio (pH 6,8) (67:33; 68:32 e 69:31 v/v), pH da fase móvel (6,7; 6,8; 6,9), e o fluxo da fase móvel (0,9 mL/min; 1 mL/min; 1,1 mL/min).

4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Desenvolvimento de método por CLAE para quantificação do fosfato de sitagliptina

Após pesquisa em compêndios oficiais, somente a Farmacopeia americana (United States Pharmacopeia 39^a ed., 2016) dispunha de método analítico para quantificação do fosfato de sitagliptina. Outros dois métodos para quantificação por CLAE foram encontrados em artigos científicos (LANGE, 2014; RAVANELLO, 2010). A partir da análise dos métodos encontrados, foram tomados como ponto de partida o volume de injeção de 20 µL e temperatura do forno de 25 °C.

A coluna cromatográfica utilizada em todos os experimentos foi C18 (150 mm x 4,6 mm; 5 µm) – Zorbax Agilent®. O comprimento de onda de 206 nm foi selecionado devido à maior intensidade de absorção em relação à 265nm e fluxo de 1,0 mL/min por mostrar-se mais adequada em função da obtenção de picos com maior tempo de retenção, devido a possibilidade da existência de sinais cromatográficos de eventuais produtos de degradação. Para a seleção da FM foram realizadas tentativas utilizando

componentes e proporções citados no item 3.1, e levando em consideração os valores de assimetria e o tempo gasto para realização das análises, a FM tampão fosfato de potássio pH 6,8 25mM: ACN (68:32v/v) mostrou-se a mais adequada. Os cromatogramas obtidos seguem na figura 1.

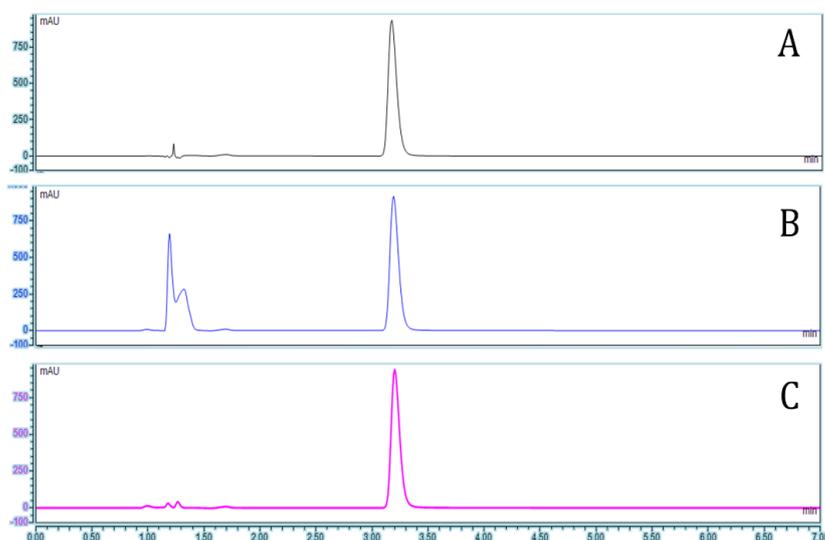


Figura 1 - Cromatogramas obtidos para a solução de fosfato de sitagliptina empregando FM tampão fosfato de potássio pH 6,8:ACN (68:32 v/v), volume de injeção de 20 μ L, fluxo de 1,0 mL/min e a 206 nm e SE diluída em meios FGSSE (pH 1,2) A, TA (pH 4,5) B e SESSE (pH 6,8).

4.2 Validação do método analítico para quantificação do fosfato de sitagliptina

No Brasil, a validação de métodos analíticos é regida atualmente pela Resolução RDC nº 166, de julho de 2017, que estabelece novos critérios para a validação de métodos analíticos (BRASIL, 2017). A norma revoga a Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003, que referenciava o referido assunto (BRASIL, 2003). O artigo 66 desta nova resolução, RDC 166, afirma que as validações de métodos analíticos realizadas conforme a Resolução RE nº 899/2003 serão aceitas, contando que tenham sido concluídas antes da data inicial de vigência da RDC 166. Os experimentos deste trabalho foram realizados baseados na RE nº 899, tendo em vista que a atual resolução não havia sido publicada.

Seletividade

Os cromatogramas relativos aos resultados da degradação forçada do fosfato de sitagliptina por calor a seco a 90°C, por 24 horas, seguem na figura 2.

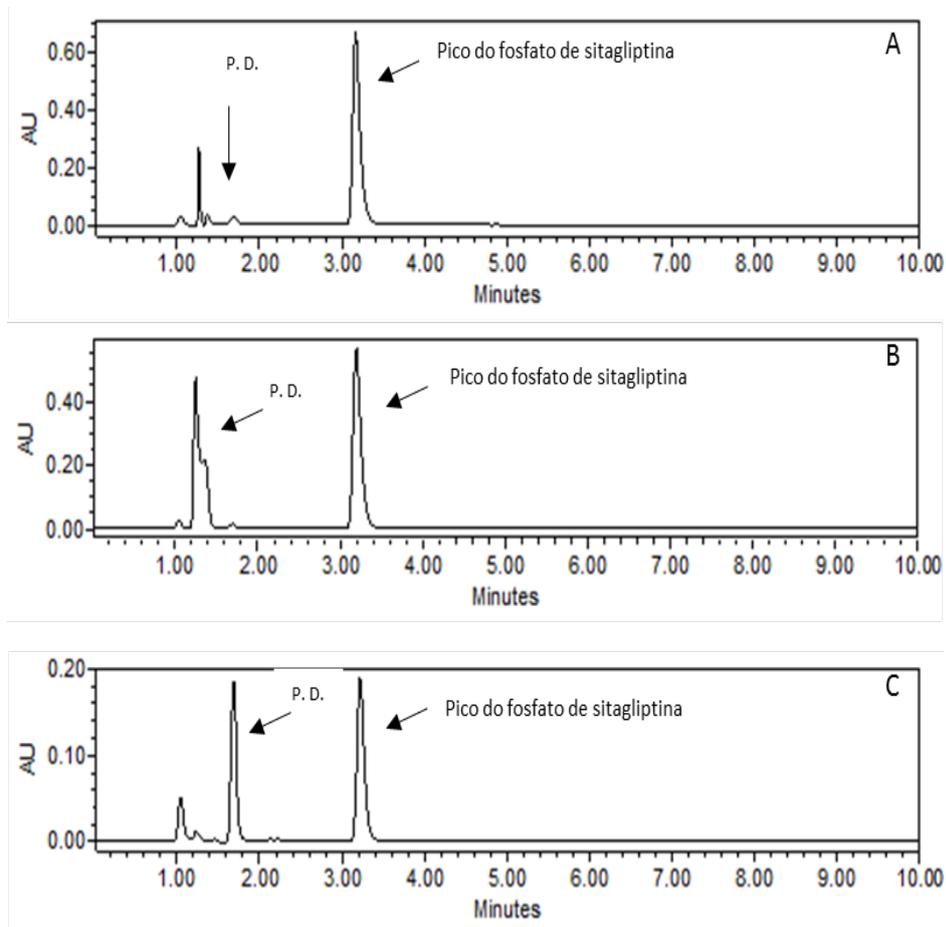


Figura 2 - Cromatogramas obtidos com a solução diluída do fosfato de sitagliptina no meio FGSSE (pH 1,2) A, TA (pH 4,5) B e SESSE (pH 6,8) C após exposição ao calor seco por 24 horas, com os respectivos picos de degradação (P.D.).

Analisando a figura 2, observa-se aparecimento dos picos de degradação nos cromatogramas A, B e C, e redução das áreas referentes aos picos do fosfato de sitagliptina quando comparados com as áreas das amostras recém-preparadas.

Para a hidrólise ácida e básica, não foi possível visualizar os picos de degradação no comprimento de onda selecionado, porém houve redução da área do pico do fármaco. Todas as soluções expostas à degradação foram avaliadas quanto a pureza do pico e os valores obtidos dos ângulos de pureza do fármaco foram inferiores aos ângulos limites em todas as análises. Estes resultados permitem atestar que o método desenvolvido é capaz de separar o pico da sitagliptina de outros sinais relativos aos seus produtos de degradação.

Linearidade

Conforme segue na figura 3, todas as curvas analíticas apresentaram Coeficiente de correlação (R) e Coeficiente de determinação (R^2) > 0,99, Portanto, atende ao requisito mínimo de linearidade preconizado pela RE 899 (BRASIL, 2003c).

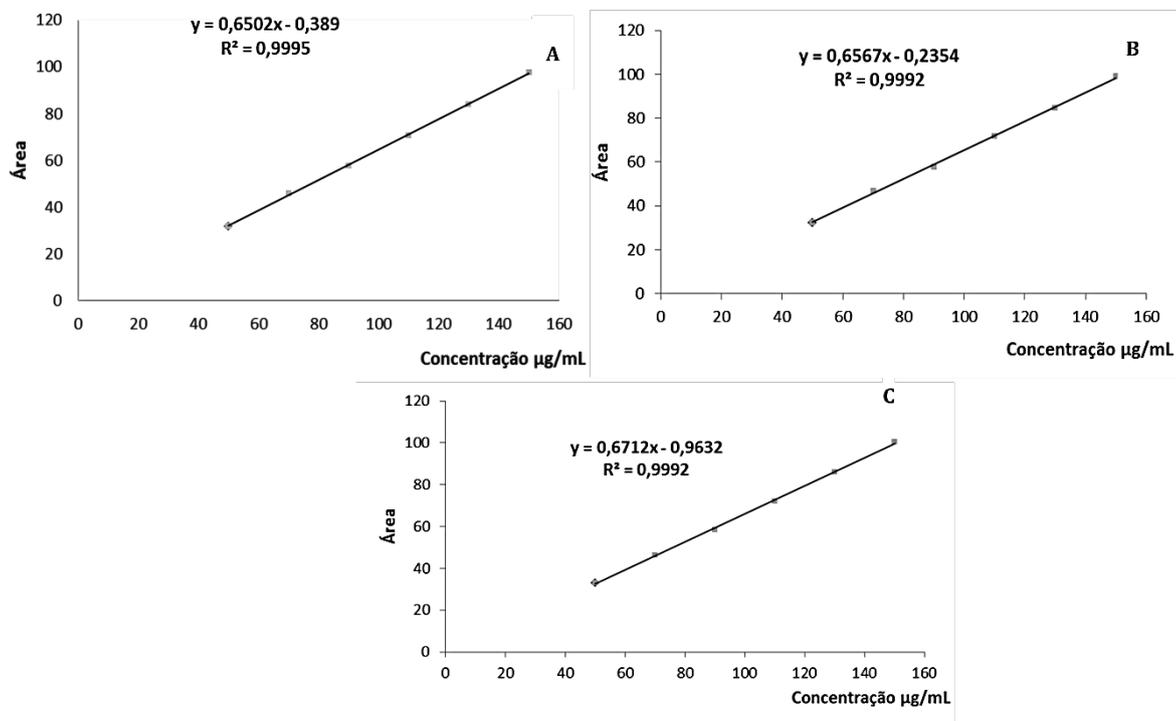


Figura 3 – Gráfico da regressão linear do método para quantificação do fosfato de sitagliptina no meio FGSSE (pH 1,2)A, SESSE (pH4,5)B e TA (pH6,8)C.

A significância da regressão foi avaliada por meio da ANOVA e em todas as análises, os valores de F calculados foram maiores que os do F crítico (Tabela I), o que confirma que os modelos são lineares e apropriados para quantificação da sitagliptina nas três matrizes avaliadas e no intervalo de concentração selecionado.

		Significância da regressão	
Meio	r	F calculado	F crítico
FGSSE (pH 1,2)	0,9997	19252,28	4,543
TA (pH 4,5)	0,9995	6123,95	4,600
SESSE (pH 6,8)	0,9997	1250,85	4,543

Tabela I - Coeficiente de correlação (r) e Significância das regressões obtidos nas análises da sitagliptina meios de pH 1,2, pH 4,5 e pH 6,8.

Onde F corresponde ao coeficiente calculado pela distribuição de Fisher Snedecor.

Precisão

A precisão, avaliada quanto a repetibilidade e precisão intermediária, apresentou valores de desvio padrão relativo (DPR) entre 0,14% a 3,75% (Tabela II), indicaram concordância com o limite de 5% exigido RE nº 899 (BRASIL, 2003c) e a precisão do método para a faixa de concentração selecionada.

Meio	Concentração (µg/mL)	Precisão		Exatidão		
		Intra-dia 1 (DPR)	Intra-dia 2 (DPR)	Inter-dia (DPR)	Exatidão (%)	DPR
FGSSE pH 1,2	50	2,11	2,61	2,23	99,03	2,11
	110	0,15	2,04	1,42	99,50	0,14
	150	0,57	1,32	0,91	100,41	0,57
TA pH 4,5	50	1,99	0,95	1,41	100,23	1,99
	110	1,19	2,18	1,57	99,56	1,18
	150	1,69	1,44	1,71	100,80	1,69
SESSE pH 6,8	50	1,38	1,50	2,25	101,95	1,38
	110	1,35	3,75	2,62	99,18	1,35
	150	0,81	2,67	2,44	100,80	0,81

Tabela II - Precisão (intra-dia /inter-dia) e exatidão, obtidas nas análises da sitagliptina nos meios de pH 1,2, pH 4,5 e pH 6,8.

Exatidão

Os resultados de exatidão para o método avaliado permaneceram na faixa de 99,03 a 101,95%, ou seja, dentro da faixa limite estabelecida de 98-102% (JENKE, 1996; GREEN, 1996), e os valores do DPR (%) foram inferiores a 5% (tabela II), portanto o método analítico desenvolvido foi considerado exato.

Limite de quantificação (LQ) e limite de detecção (LD)

Os limites de quantificação e detecção teóricos calculados, a menor concentração na faixa de trabalho foi maior que os valores de LQ apresentados, e as soluções de menores concentrações apresentaram precisão e exatidão aceitáveis (Tabela III).

Meio	LD (µg/mL)	LQ (µg/mL)
FGSSE (pH 1,2)	0,35	1,16
TA (pH 4,5)	2,02	6,75
SESSE (pH 6,8)	3,66	12,22

Tabela III - Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) calculados para o método de quantificação do fosfato de sitagliptina nos meios de pH 1,2, pH 4,5 e pH 6,8.

Robustez

O método mostrou-se robusto às variações da proporção e pH da FM e susceptível às variações na velocidade de fluxo da FM.

A escolha pelo desenvolvimento e validação do método por CLAE aplicável aos estudos biofarmacêuticos, se deu principalmente, por ser um método que permite além da identificação, a separação e quantificação do fármaco de forma seletiva (SKOOG et al., 2006), o que traz maior confiabilidade aos resultados obtidos.

Conforme todos os resultados descritos, os parâmetros seletividade, linearidade,

intervalo, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e robustez estabelecidos pela resolução 899 da ANVISA - guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos (BRASIL, 2003) foram cumpridos.

5 | CONCLUSÃO

O método analítico para quantificação da sitagliptina em meios biorrelevantes foi desenvolvido e validado, mostrou-se adequado na faixa de concentração de 50 a 150 µg/mL, para ser aplicado ao estudo da solubilidade em equilíbrio pelo método da agitação orbital em frascos

AGRADECIMENTOS

PPG-CIPHARMA, UFOP, EFAR, FAPEMIG, O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION (ADA). **Pharmacologic approaches to glycemic treatment**. Diabetes Care, v. 40, p. S64 - S74, 2017.

ANSARULLAH LU Y, HOLSTEIN M, DERUYTER B, RABINOVITCH A, GUO Z. **Stimulating β -cell regeneration by combining a GPR119 agonist with a DPP-IV inhibitor**. PLoS One, v. 8(1), p. 53345, 2013.

BETHEL M. A, SAMUEL S. ENGEL, JENNIFER B. GREEN, ZHEN HUANG, ROBERT G. JOSSE, KEITH D. KAUFMAN, EBERHARD STANDL, SHAILAJA SURYAWANSHI, FRANS VAN DE WERF, DARREN K. MCGUIRE, ERIC D. PETERSON, RURY R. HOLMAN. **Assessing the Safety of Sitagliptin in Older Participants in the Trial Evaluating Cardiovascular Outcomes With Sitagliptin (TECOS)**. Diabetes Care, dc161135, p. 1-8, 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 899, de 29 de maio de 2003. “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”**. Diário Oficial da União, Brasília, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC n. 166 de 25 de julho de 2017 que estabelece novos critérios para a validação de métodos analíticos**. Diário Oficial da União, Brasília, 2017. Disponível em: <https://www20.anvisa.gov.br/coifa/pdf/rdc166.pdf>, acesso em janeiro de 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Resolução RDC Nº 37, de 3 de agosto de 2011. “Dispõe sobre o Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência e dá outras providências”**. Diário Oficial da União. Brasília, 2011. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis>. Acesso em: 01 de dezembro de 2018.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Guidance for industry: waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms base on biopharmaceutics classification system** FDA, 1-13, 2000.

GREEN, J. M. **Practical Guide to Analytical Method Validation**. Analytical Chemistry, v. 68, p. 305A-309A, 1996.

GREEN J B, BETHEL MA, ARMSTRONG P W, BUSE J B, ENGEL S S, GARG J, JOSSE R, KAUFMAN K D, KOGLIN J, KORN S, LACHIN J M, MCGUIRE D K, PENCINA M J, STANDLE, STEIN P P, SURYAWANSHI S, WERF F V, PETERSON E D, HOLMAN R R. **Effect of Sitagliptin on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes**. The New England Journal of Medicine, v. 373, p. 232-242, 2015.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). **Diabetes Atlas**. Sétima Edição, 2015. Disponível em <http://www.diabetesatlas.org/>. Acesso em 10 fevereiro de 2019.

JENKE D R. **Chromatographic method validation: a review of current practices and procedures**. II Guidelines for primary parameters. Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies, v. 19, n. 5, p. 737-757, 1996.

KIM S S, KIM I J, LEE K J, PARK J H, KIM Y I, LEE Y S, CHUNG S C, LEE S J. **Efficacy and safety of sitagliptin/metformin fixed-dose combination compared with glimepiride in patients with type 2 diabetes: A multicenter randomized double-blind study**. Journal of Diabetes, v. 9, p. 412-422, 2016.

LANGE C, BATISTEL A P, SFAIR L L, CARLOSSO J, VOLPATO N M, SCHAPOVAL E E S. **Sitagliptin phosphate: development of a dissolution method for coated tablets based on in vivo data for improving medium sensitivity**. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Dissolution Technologies, p. 17-22, 2014.

RAVANELLO A. **Desenvolvimento e Validação de metodologia para avaliação do fosfato de sitagliptina**. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2010.

RAZ I, CHEN Y, WU M, HUSSAIN S, KAUFMAN KD, AMATRUDA JM, LANGDON RB, STEIN PP, ALBA M. **Efficacy and safety of sitagliptin added to ongoing metformin therapy in patients with type 2 diabetes**. Journal Current Medical Research and Opinion, v. 24(2), p. 537-50, 2008.

RETNAKARAN R, QI Y, OPSTEEN C, VIVERO E, ZINMAN B. **Initial short-term intensive insulin therapy as a strategy for evaluating the preservation of beta-cell function with oral antidiabetic medications: a pilot study with sitagliptin**. Diabetes, Obesity and Metabolism, v. 12(10), p. 909-15, 2010.

SCHWEIZER A, COUTURIER A, FOLEY J E, DEJAGER S. **Comparison between vildagliptin and metformin to sustain reductions in HbA1c over 1 year in drug-naïve patients with Type 2 diabetes**. Diabetic Medicine, v. 24, p. 955–961, 2007.

SCOTT R, WU M, SANCHEZ M, STEIN P. **Efficacy and tolerability of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin as monotherapy over 12 weeks in patients with type 2 diabetes**. Expert Opinion Drug Metabolism Toxicology, v. 6, p. 1265-76, 2010.

SKOOG, D. A. *et al.* **Fundamentos de Química Analítica**. São Paulo - SP: Editora Thomson, 2006.

SNYDER, Lloyd R.; KIRKLAND, Joseph J.; GLAJCH, Joseph L. **Practical HPLC Method Development**. 2a ed. Estados Unidos da América: John Wiley & Sons, 542-3. 1973.

Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD). **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018**. São Paulo, Editora Clannad, 2017. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/2017/diretrizes/diretrizes-sbd-2017-2018.pdf>. Acesso em: fevereiro de 2019.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA THE NATIONAL FORMULARY, **USP 37^a ed**, 2015.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA THE NATIONAL FORMULARY, **USP 39^a ed.**, p. 5852, 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms.** Technical Report Series, No 937, 40th Report, Annex 8 of WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations, 2006. Disponível em: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s19640en/s19640en.pdf>, acesso em: dezembro de 2018.

SOBRE OS ORGANIZADORES

LETÍCIA BANDEIRA MASCARENHAS LOPES Farmacêutica, Graduada em Farmácia pelo Centro Universitário INTA (UNINTA). Especialista em caráter de Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência (SCMS e UNINTA), especialista em Gestão e Logística Hospitalar pela Universidade Cândido Mendes (UCAM), pós - graduanda em Farmácia Clínica e Cuidados Farmacêutico, pela Escola Superior da Amazônia (ESAMAZ), pós - graduanda em Análises Clínicas e Microbiologia pela Universidade Cândido Mendes (UCAM).

TIAGO SOUSA MELO Possui graduação em FARMÁCIA pela Universidade Federal do Ceará (2009). Doutor em Biotecnologia em Saúde pela Rede Nordeste de Biotecnologia RENORBIO. Atualmente é professor dos Cursos de Farmácia e Odontologia e gestor de pesquisa do curso de Farmácia do Centro Universitário INTA. Também exerce atividade como tutor da Residência Multiprofissional em Urgência e Emergência da Santa Casa de Misericórdia de SobralCE. Tem experiência na área de Farmacologia Pré-Clínica de Produtos Naturais, com ênfase no estudo de plantas medicinais com ação em distúrbios metabólicos (diabetes, dislipidemia e obesidade) e Farmacologia Clínica.

Agência Brasileira do ISBN

ISBN 978-85-7247-323-1



9 788572 473231