

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CEFPIROMA: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE  
MÉTODOS ANALÍTICOS E ESTUDO DA ESTABILIDADE**

**TÉRCIO PASCHKE OPPE**

PORTO ALEGRE, 2007

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CEFPIROMA: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE  
MÉTODOS ANALÍTICOS E ESTUDO DA ESTABILIDADE**

Tese apresentada por **Tércio Paschke Oppe**  
para obtenção do TÍTULO DE DOUTOR em  
Ciências Farmacêuticas

Orientador: Profa. Dr. Elfrides Eva Scherman Schapoval

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 03.08.2007, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dr. Istefani Carísio de Paula  
Universidade Federal do Rio grande do Sul

Prof. Dr. Martin Steppe  
Universidade Federal do Rio grande do Sul

Profa. Dr. Nadia Maria Volpato  
Universidade Federal do Rio grande do Sul

Profa. Dr. Simone Gonçalves Cardoso  
Universidade Federal de Santa Catarina

O62c      Oppe, Tércio Paschke  
            Cefpiroma: desenvolvimento e validação de métodos analíticos e estudo da estabilidade – Porto Alegre : UFRGS, 2007. - 179 p.: il., graf., tab.

            Tese (doutorado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

            1. Cefpiroma. 2. Cefalosporina. 3. Validação : métodos de análise de fármacos. 4. Controle de qualidade de medicamentos. 5. Estabilidade. 6. Fotoestabilidade. 7. Produtos de degradação. I. Schapoval, Elfrides Eva Scherman. II. Título.

CDU: 615.2.07

Bibliotecária responsável:  
Margarida Maria Cordeiro Fonseca Ferreira, CRB 10/480



Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Controle de Qualidade (LEPCQ) e no Laboratório de Controle de Qualidade (LCQFAR), da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, na Cidade de Porto Alegre, com financiamento do CNPq.



*A minha mãe, Ilza,  
pelo amor e incentivo...*

*A minhas irmãs, Cleide e Dorine,  
pelo amor e incentivo...*

*A minha sobrinha Ana Letícia,  
pelo amor e compreensão...*

*Ao meu grande amigo e irmão espiritual,  
Mario Rocha, pelo companheirismo, apoio  
e amizade...*





## **AGRADECIMENTOS**

À Professora Dr. Elfrides Eva Scherman Schapoval pela orientação, dedicação, constante estímulo no desenvolvimento deste trabalho e apoio em diversos momentos profissionais e pessoais, além de seu exemplo de vida, dedicação e profissionalismo.

À universidade Federal do Rio Grande do Sul, ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêutica e à Faculdade de Farmácia em nome de todos os professores, técnicos e alunos.

Ao professores do Departamento de Produção e Controle de Medicamentos da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Aos professores das disciplinas de Controle de Qualidade de Fármacos e Medicamentos e Estágio em Indústria Farmacêutica: Célia Chaves, Nadia Volpato, Martin Steppe e Hélder Teixeira pela amizade, companheirismo e compreensão.

Ao Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em nome do Prof. Dr. Mauro de Castro, pelo auxílio na aquisição das amostras do produto farmacêutico.

À Virna Schuck pelo auxílio na aquisição da substância química de referência Cefpiroma.

À professora Dr. Teresa Dalla Costa e ao professor MSc. Eduardo Palma pela disponibilidade do equipamento de Espectroscopia de Massa e realização dos experimentos.

Às amigas do Laboratório de Controle de Qualidade, da Faculdade de Farmácia da UFRGS, Ana Carolina Pineyro, Daniela Ghisleni, Leila Brasil, Lorena Fratini e Roselaine Quadros (Rose), pela amizade, sugestões, disponibilidade de materiais e equipamentos e colaboração durante todos estes anos.

À Júlia Menegola pela amizade e auxílio na parte prática deste trabalho.

A todos os amigos do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Controle de

Qualidade de Faculdade de Farmácia da UFRGS: Alini Lange, Ana Rita Breier, Andeas Mendez, Cássia Garcia, Clésio Paim, Cristiane da Silva, Diogo Miron, Edna Suyenaga, Gabriela de Oliveira, Heloisa Gonçalves, Lauren Vauger, Letícia Sfair, Juliana Sippel, Juliana Román, Magda Martins, Marcelo Malesuik, Mariana Sönksen, Miriam Apel, Patrícia Gomes e Vanessa Weissheimer, pelo auxílio e amizade.

A Deus por guiar meus caminhos.

A minha família, em especial a minha mãe Ilza, irmãs Cleide e Dorine e a minha sobrinha Ana Letícia pelo amor, carinho, apoio e compreensão.

A todos os meus amigos e seus familiares, em especial ao James Renato Ribeiro, Jefferson Saturno, Lorena Wehler, Mário Rocha e Sérgio Renato Lima, pela amizade, amor, carinho, apoio e compreensão.

A todos que mesmo não citados, contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho...

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	XIII
LISTA DE TABELAS .....	XVII
LISTA DE ABREVIATURAS .....	XIX
RESUMO.....	XXI
ABSTRACT .....	XXIII
APRESENTAÇÃO .....	01
1 INTRODUÇÃO .....	03
2 OBJETIVOS .....	09
2.1 - Objetivo Geral .....	11
2.2 - Objetivos Específicos .....	11
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	13
4 CAPÍTULO 1: ANÁLISE QUALITATIVA DA CEFPIROMA NA SQR E NA FORMA FARMACÊUTICA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL .....	21
4.1 INTRODUÇÃO .....	23
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	23
4.2.1 Características Organolépticas.....	23
4.2.2 Determinação do pH.....	24
4.2.3 Determinação da Faixa de Fusão.....	24
4.2.4 Identificação .....	24
4.2.4.1 Espectrofotometria na Região do Ultravioleta .....	25
4.2.4.2 Espectrofotometria na Região do Infravermelho .....	25
4.2.4.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	25
4.2.4.5 Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	25
4.2.4.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) .....	26
4.2.4.7 Identificação do Íon Sulfato .....	27
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.3.1 Características Organolépticas.....	27
4.3.2 Determinação do pH.....	27
4.3.3 Determinação da Faixa de Fusão.....	28
4.3.4 Identificação .....	30
4.3.4.1 Espectrofotometria na Região do Ultravioleta .....	31
4.3.4.2 Espectrofotometria na Região do Infravermelho .....	32
4.3.4.3 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) .....	33

4.3.4.5 Cromatografia em Camada Delgada (CCD) .....	39
4.3.4.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência .....	41
4.3.4.7 Identificação do íon Sulfato .....	42
4.4 CONCLUSÕES .....	43
5 CAPÍTULO 2: ANÁLISE QUANTITATIVA DA CEFPIROMA NA FORMA FARMACÊUTICA PÓ PARA SOLUÇÃO INJETÁVEL .....	45
5.1 INTRODUÇÃO .....	47
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS .....	49
5.2.1 Espectrofotometria no Ultravioleta (UV) .....	50
5.2.1.1 Determinação da Linearidade .....	50
5.2.1.2 Avaliação da Precisão .....	52
5.2.1.3 Avaliação da Exatidão .....	52
5.2.1.4 Avaliação da Especificidade .....	53
5.2.1.5 Determinação dos Limite de Detecção e Quantificação .....	54
5.2.1.6 Avaliação da Robustez .....	54
5.2.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) .....	55
5.2.2.1 Determinação da Linearidade .....	56
5.2.2.2 Avaliação da Precisão .....	57
5.2.1.3 Avaliação da Exatidão .....	57
5.2.2.4 Avaliação da Especificidade .....	58
5.2.1.5 Determinação dos Limite de Detecção e Quantificação .....	59
5.2.2.6 Avaliação da Robustez .....	59
5.2.3 Doseamento Microbiológico – Método Difusão em Ágar .....	60
5.2.3.1 Determinação da Linearidade .....	63
5.2.2.2 Avaliação da Precisão .....	63
5.2.1.3 Avaliação da Exatidão .....	63
5.2.2.4 Avaliação da Especificidade .....	64
5.2.2.5 Avaliação da Robustez .....	65
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	65
5.3.1 Espectrofotometria no Ultravioleta (UV) .....	66
5.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) .....	74
5.3.3 Doseamento Microbiológico – Método Difusão em Ágar .....	83
5.3.4 Análise Comparativa dos Métodos Empregados .....	89
5.4 CONCLUSÕES .....	90

6 CAPÍTULO 3: ESTABILIDADE DA CEFPIROMA NA FORMA FARMACÊUTICA SOLUÇÃO INJETÁVEL .....	91
6.1 INTRODUÇÃO .....	93
6.2 ESTUDO DE ESTABILIDADE .....	96
6.2.1 Estudo Preliminar de Estabilidade .....	96
6.2.2 Estudo Acelerado de Estabilidade .....	97
6.2.2.1 Preparo das Amostras .....	98
6.2.3 Resultado e Discussão .....	98
6.2.3.1 Estudo Preliminar de Estabilidade .....	98
6.2.3.2 Estudo Acelerado de Estabilidade .....	100
6.2.3.2.1 Estabilidade Térmica .....	101
6.2.3.2.2 Estabilidade Fotoquímica .....	107
6.3 ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE PRODUTO(S) DE DEGRADAÇÃO .....	114
6.3.1 Isolamento do Produto de Degradação .....	114
6.3.2 Caracterização e Identificação do Produto de Degradação.....	115
6.3.2.1 Características Organolépticas .....	115
6.3.2.2 Identificação .....	115
6.3.3 Resultado e Discussão .....	115
6.3.3.1 Caracterização e Identificação do Produto de Degradação.....	117
6.3.3.1.1 Características Organolépticas.....	117
6.3.3.1.2 Identificação .....	117
6.4 CONCLUSÕES .....	126
7 CONCLUSÕES GERAIS .....	129
8 REFERÊNCIAS .....	133
9 ANEXO .....	143
10 BIOGRAFIA .....	149



## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 - Estruturas químicas do ácido 6-aminopenicilânico e do ácido 7-amino-cefalosporânico.....	16
Figura 3.2 - Estrutura química da cefpiroma.....	17
Figura 4.1 - Curva obtida na análise térmica por calorimetria diferencial de varredura (DSC) para a cefpiroma SQR .....	29
Figura 4.2 - Curva obtida na análise térmica por calorimetria diferencial de varredura (DSC) para o produto CEFROM <sup>®</sup> .....	29
Figura 4.3 - Curva obtida na análise térmica por calorimetria diferencial de varredura (DSC) para carbonato de sódio .....	30
Figura 4.4 - Espectros de absorção obtidos na região do ultravioleta para cefpiroma nos quatro diferentes solventes testados .....	31
Figura 4.5 - Espectros de absorção obtidos na região do ultravioleta para cefpiroma SQR e forma farmacêutica pó para solução injetável.....	32
Figura 4.6 - Espectro na região do infravermelho da cefpiroma SQR e amostra pó para solução injetável .....	33
Figura 4.7 – Espectro de RMN <sup>1</sup> H obtido para a cefpiroma SQR, na forma de sulfato.....	34
Figura 4.8 – Espectro de RMN <sup>13</sup> C obtido para a cefpiroma SQR, na forma de sulfato.....	35
Figura 4.9 – Espectro COSY obtido para a cefpiroma SQR, na forma de sulfato.....	37
Figura 4.10 – Espectro HMQC obtido para a cefpiroma SQR, na forma de sulfato.....	38
Figura 4.11 – Espectro DEPT obtido para a cefpiroma SQR, na forma de sulfato.....	39
Figura 4.12 - Perfil cromatográfico das amostras cefpiroma SQR e forma farmacêutica e cefalotina sódica .....	40
Figura 4.13 - Cromatogramas obtidos através da análise por CLAE das soluções de cefpiroma SQR e amostra pó para solução injetável.....	42
Figura 5.1 – Representação gráfica da curva de Ringbom para cefpiroma por espectrofotometria no UV a 271 nm .....	67
Figura 5.2 – Representação gráfica da curva padrão de cefpiroma, obtida por espectrofotometria no UV a 271 nm .....	67
Figura 5.3 – Espectros de absorção obtidos para a cefpiroma SQR e forma farmacêutica e carbonato de sódio.....	71
Figura 5.4 – Espectros de absorção obtidos para a cefpiroma SQR, solução aquosa de cefpiroma armazenada a 40 °C por vinte e quatro horas e solução aquosa de cefpiroma armazenada a luz UV 254 nm por uma hora .....	72

Figura 5.9 – Representação gráfica da curva padrão de cefpiroma, obtida por CLAE a 265 nm .....	75
Figura 5.10 – Cromatogramas obtidos para a solução aquosa de cefpiroma: cefpiroma SQR, amostra pó para solução injetável, amostra após exposição à luz ultravioleta (254 nm) por uma hora e amostra armazenada a 40 °C por dois dias .....	79
Figura 5.11 - Curva de pureza obtida na análise por CLAE da solução aquosa de cefpiroma (forma farmacêutica) exposta à degradação térmica a 40 °C por dois dias.....	81
Figura 5.12 – Representação gráfica da curva padrão de cefpiroma, obtida através do ensaio microbiológico, método de difusão em ágar – cilindros em placas .....	85
Figura 6.1 - Hidrólise das cefalosporinas com rompimento do anel $\beta$ -lactâmico com a presença do grupamento piridina em C(3').....	96
Figura 6.2 - Cromatogramas obtidos para o estudo preliminar da cefpiroma após reconstituição em água .....	99
Figura 6.3 – Representação gráfica da curva de degradação térmica da cefpiroma na amostra reconstituída pó para solução injetável, à temperatura de 40 °C, por CLAE .....	103
Figura 6.4 – Aspecto das soluções obtidas no estudo acelerado da estabilidade térmica a 40 °C.....	103
Figura 6.5 – Representação gráfica da degradação térmica a 40 °C de cefpiroma, na forma farmacêutica pó para solução injetável após reconstituição, em função do tempo, para reação de primeira ordem.....	105
Figura 6.6 – Representação gráfica da curva de degradação fotoquímica da cefpiroma na amostra reconstituída pó para solução injetável, em luz ultravioleta 254 nm, por CLAE .....	109
Figura 6.7 – Representação gráfica para reação de primeira ordem da degradação fotoquímica no UVC 254 nm de cefpiroma, na forma farmacêutica pó para solução injetável após reconstituição, em função do tempo.....	111
Figura 6.8 – Perfil cromatográfico das amostras de cefpiroma submetidas à degradação térmica e fotoquímica: cefpiroma SQR .....	116
Figura 6.9 – Espectro de RMN de hidrogênio do produto de degradação PDT 1 .....	118
Figura 6.10 – Espectro de RMN de carbono do produto de degradação PDT 1 .....	119
Figura 6.11 – Espectro COSY do produto de degradação PDT 1 .....	120
Figura 6.12 – Espectro HMQC do produto de degradação PDT 1 .....	121
Figura 6.13 – Espectro DEPT do produto de degradação PDT 1.....	122
Figura 6.14 – Espectro na região do infravermelho obtido para a cefpiroma SQR e produto de degradação térmica PDT 1 .....	123



Figura 6.15 – Espectro de massa obtido por ionização eletrônica para a cefpiroma SQR.....	124
Figura 6.16 – Espectro de massa obtido, por ionização eletrônica, para o PDT 1 .....	125
Figura 6.17 - Estrutura química proposta para o PDT 1 .....	126



## LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1 – Preparo das soluções para obtenção da curva de Ringbom de cefpiroma por espectrofotometria no UV a 271 nm, utilizando HCl 0,1 M como solvente. ....	51
Tabela 5.2 – Condições analíticas utilizadas no desenvolvimento do doseamento microbiológico .....	61
Tabela 5.3 – Valores de absorvância obtidos na construção de curvas padrão de cefpiroma por espectrofotometria no UV a 271 nm, usando HCl 0,1 M como solvente .....	68
Tabela 5.4 – Análise da variância das absorvâncias obtidas na construção das curvas padrão de cefpiroma, através da espectrofotometria no ultravioleta a 271 nm .....	69
Tabela 5.5 – Resultados obtidos na determinação de cefpiroma na amostra pó para solução injetável pelo método espectrofotométrico no UV a 271 nm, usando HCl 0,1 M como solvente .....	70
Tabela 5.6 – Resultados obtidos no teste de recuperação de cefpiroma pelo método espectrofotométrico no UV a 271 nm.....	70
Tabela 5.7 – Resultados obtidos nos testes de especificidade e de robustez, pelo método espectrofotométrico no UV a 271 nm.....	73
Tabela 5.8 – Valores experimentais obtidos na determinação da cefpiroma em diferentes equipamentos de espectroscopia de absorção molecular no UV a 271 nm .....	74
Tabela 5.9 – Valores de áreas obtidos na construção de curvas padrão de cefpiroma por cromatografia líquida de alta eficiência.....	76
Tabela 5.10 – Análise da variância das áreas obtidas na construção das curvas padrão de cefpiroma, através da CLAE .....	77
Tabela 5.11 – Resultados obtidos na determinação de cefpiroma na amostra pó para solução injetável por cromatografia líquida de alta eficiência .....	78
Tabela 5.12 – Resultados obtidos no teste de recuperação de cefpiroma por cromatografia líquida de alta eficiência .....	78
Tabela 5.13 – Resultados obtidos nos teste de especificidade e estabilidade das soluções por cromatografia líquida de alta eficiência .....	80
Tabela 5.14 – Valores experimentais obtidos no teste de robustez do método cromatográfico proposto .....	82
Tabela 5.15 – Valores dos diâmetros dos halos de inibição obtidos na determinação da curva padrão de cefpiroma, através do ensaio microbiológico, método de difusão em ágar – cilindros em placas.....	84
Tabela 5.16 – Análise da variância dos diâmetros dos halos de inibição para obtenção da curva padrão de cefpiroma, através do ensaio microbiológico .....	85
Tabela 5.17 – Resultados obtidos na determinação de cefpiroma na amostra pó para solução injetável através do ensaio microbiológico.....	86

Tabela 5.18 – Resultados obtidos no teste de recuperação de cefpiroma através do ensaio microbiológico.....	87
Tabela 5.19 – Resultados obtidos nos teste de especificidade e estabilidade das soluções pelo do ensaio microbiológico .....	88
Tabela 5.20 – Valores experimentais obtidos para a quantificação da cefpiroma na amostra pó para solução injetável, através dos métodos propostos validados .....	89
Tabela 5.21 – Análise da variância dos valores obtidos na determinação quantitativa de cefpiroma na amostra pó para solução injetável, através dos métodos propostos validados .....	90
Tabela 6.1 - Teores obtidos na determinação de cefpiroma para as amostras submetidas ao estudo preliminar de estabilidade por CLAE .....	100
Tabela 6.2 - Valores experimentais obtidos no estudo da estabilidade térmica a 40 °C da amostra reconstituída pó para solução injetável de cefpiroma, através da CLAE.....	102
Tabela 6.3 - Valores experimentais obtidos no estudo da estabilidade térmica a 40 °C da amostra reconstituída pó para solução injetável de cefpiroma, através de CLAE.....	104
Tabela 6.4 – Valores das velocidades de degradação (k) da cefpiroma, obtidos segundo uma cinética de primeira ordem .....	106
Tabela 6.5 - Valores experimentais obtidos no estudo da estabilidade fotoquímica em luz UVC 254 nm da amostra reconstituída pó para solução injetável de cefpiroma, através da CLAE .....	108
Tabela 6.6 - Valores experimentais obtidos no estudo da estabilidade fotoquímica da amostra reconstituída pó para solução injetável de cefpiroma, através de CLAE.....	110
Tabela 6.7 – Valores das velocidades de degradação (k) da cefpiroma, obtidos segundo uma cinética de primeira ordem .....	111
Tabela 6.8 - Valores experimentais obtidos no estudo da estabilidade fotoquímica em luz UVC 254 nm da amostra reconstituída pó para solução injetável de cefpiroma e para o branco, através da CLAE .....	113

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
CCD	Cromatografia em camada delgada
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
COSY	Correlation spectroscopy
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer spectroscopy
DPR	Desvio padrão relativo
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
e.p.m	Erro padrão da média
gl	Graus de liberdade
HMQC	Heteronuclear multiple quantum coherence
IV	Infravermelho
k	Constante de velocidade de degradação
PDT 1	Produto de degradação 1 obtido no estudo da estabilidade térmica
r	Coefficiente de correlação
Rf	Fator de retenção
RMN	Ressonância magnética nuclear
SQR	Substância química de referência
UV	Ultravioleta



## RESUMO

Neste trabalho, foram desenvolvidos e validados métodos qualitativos e quantitativos para o controle de qualidade de cefpiroma, antibiótico  $\beta$ -lactâmico de amplo espectro utilizado, principalmente, no tratamento de infecções graves e episódios febris em pacientes com neutropenia, na forma farmacêutica pó para solução injetável. A substância química de referência utilizada nas análises foi caracterizada por espectrofotometria no infravermelho e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear. A análise qualitativa foi realizada por cromatografia em camada delgada, determinação da faixa de fusão, espectrofotometria nas regiões do ultravioleta e do infravermelho e cromatografia líquida de alta eficiência, possibilitando a identificação da amostra. A determinação quantitativa foi realizada através dos métodos: espectrofotometria no ultravioleta, cromatografia líquida de alta eficiência e ensaio microbiológico pelo método de difusão em ágar – cilindros em placas, delineamento 3 x 3. Os métodos propostos foram validados segundo guias oficiais e demonstraram ser específicos, lineares, precisos e exatos. Os resultados obtidos demonstraram não haver diferença significativa entre os métodos quando comparados estatisticamente pela análise de variância (ANOVA). Outro objetivo deste trabalho foi o estudo da estabilidade da cefpiroma na forma farmacêutica reconstituída com água para injetável. Os fatores de degradação avaliados foram temperatura (40 °C) e luz (UVC – 254 nm). Os estudos acelerados de estabilidade demonstraram que a cinética de degradação térmica e fotoquímica foi de primeira ordem. Um produto de degradação térmica foi isolado e identificado, por ressonância magnética nuclear, espectrofotometria no infravermelho e espectroscopia de massa, como sulfato de *6-7-diidro-5H-ciclopenta[b]piridinium*.

**Palavras-chaves:** cefpiroma, cefalosporina, validação, método analítico, controle de qualidade, estabilidade, fotoestabilidade, produtos de degradação.





## ABSTRACT

The aim of this study was the development and validation of analytical methods to the determination of cefpirome in powder for injectable preparation and the stability study of the drug after reconstitution of the pharmaceutical dosage form with injectable water. Cefpirome is a fourth-generation cephalosporin active against a broad spectrum of gram-negative and gram-positive bacterial infections and its principal indication is in the treatment of patients' septic shock or several sepsis. The substance used as reference standard in the analysis was characterized by infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance. The qualitative analysis was performed by thin layer chromatography, melting range determination, infrared and ultraviolet spectroscopy and high performance liquid chromatography, allowing the identification of samples. The quantitative determination was performed by ultraviolet spectrophotometry, high performance liquid chromatography and cylinder-plate microbiological assay (3 x 3). The proposed methods were validated following official guides and all of them demonstrated to be specific, linear, precise and accurate. The obtained results were analyzed by the ANOVA method and they are not statistically different. The degradation factors evaluated were the temperature (40 °C) and light (UVC – 254 nm) and the accelerated stability demonstrated that the degradation kinetics from thermal and photo degradation were first-order reactions. A thermal degradation product was isolated and identified, by nuclear magnetic resonance, infrared spectroscopy and mass spectrometry, as *6-7-dihidro-5H-cyclopenta[b]pyridinium* sulfate.

**Keywords:** cefpirome, cephalosporin, validation, analytical method, quality control stability, photostability, degradation products.



## APRESENTAÇÃO

De acordo com as normas vigentes no Estatuto do Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, a presente tese foi redigida na forma de capítulos, para uma melhor organização e discussão dos resultados obtidos. Assim, este exemplar encontra-se dividido da seguinte forma:

1 Introdução;

2 Objetivos;

3 Revisão Bibliográfica;

4 Capítulo 1: Análise qualitativa da cefpiroma na SQR e na forma farmacêutica pó para solução injetável;

5 Capítulo 2: Análise quantitativa da cefpiroma na forma farmacêutica pó para solução injetável;

6 Capítulo 3: Estabilidade da cefpiroma na forma farmacêutica solução injetável;

7 Conclusões finais;

8 Referências;

9 Anexo

10 Biografia



---

# 1 INTRODUÇÃO



A garantia da qualidade vem sendo uma preocupação dos profissionais das ciências farmacêuticas, fazendo com que numerosos sistemas de avaliação sejam utilizados para caracterização e comparação dos métodos empregados na fabricação de medicamentos. Neste crescente interesse, percebe-se a existência de duas opiniões antagônicas a respeito dos investimentos destinados ao controle de qualidade: necessidade ou modismo (PARVIN, 1997).

A população, contudo, vem fazendo respeitar os seus direitos, buscando produtos de qualidade comprovada principalmente em relação aos produtos necessários à promoção e preservação da saúde e, nesse sentido, o controle de qualidade de medicamentos torna-se indispensável à existência de um povo sadio.

A produção de medicamentos sem controle de qualidade é inconcebível. Com o controle de qualidade visa-se fabricar produtos de determinada qualidade, de forma sistemática e uniforme; a produção e a conservação dessa qualidade durante todo o processo de comercialização interessam tanto aos fabricantes quanto aos consumidores. Muitos fabricantes devotam grande empenho, enquanto que outros não se preocupam o suficiente com a elaboração de seu produto sendo, neste caso, indispensável um controle de qualidade que garanta a eficácia do medicamento (KOROLKOVAS, 1988; SANTORO, 1988; BRASIL, 1990; BRASIL, 2003a).

Dentre os objetivos do controle de qualidade está a obtenção de medicamentos melhores, mais eficazes, menos tóxicos e mais estáveis e, principalmente, a garantia do conteúdo da substância ativa nas especialidades disponíveis no mercado. Cada formulação farmacêutica, onde exista um fármaco, representa um problema analítico específico a ser resolvido. O controle de qualidade no medicamento, ou seja, na especialidade farmacêutica é um processo complexo, e para que se tenha confiabilidade nos resultados de uma análise, deve-se fazer considerações em relação às amostras, ao método empregado e ao analista (OHLWEILER, 1984; SANTORO, 1988).

Quando se fala em qualidade sob o ponto de vista legal, deve-se ter uma fiscalização no decorrer da fabricação e da dispensação, considerando-se os aspectos qualitativos e quantitativos das substâncias ativas declaradas para verificar

se o laboratório produtor está cumprindo as proposições feitas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (SANTORO, 1988; BRASIL, 2003a).

O objetivo principal das especificações de qualidade é de obter bases para decidir se o produto analisado pode ser considerado adequado para uso ou não. Os testes de análise de pureza podem ser qualitativos (não requerem exatidão) ou quantitativos, mas a sensibilidade do método é de grande importância. Os ensaios de quantidade e potência requerem o mais alto grau de precisão e exatidão (KOROLKOVAS, 1988; SANTORO, 1988).

Os profissionais de atuação direta no controle de qualidade devem compreender os princípios básicos em que se fundamentam os métodos de análise e se capacitar para o desenvolvimento e a seleção dos métodos mais adequados a um novo produto, pois o uso de técnicas analíticas sensíveis e específicas à forma farmacêutica e às propriedades físico-químicas do fármaco é imprescindível para determinação e a segurança dos medicamentos.

É de extrema importância a existência de metodologias analíticas validadas e disponíveis em códigos oficiais para elevar a confiabilidade da avaliação da qualidade dos produtos farmacêuticos. Desta maneira, os programas de padronização e da vigilância destes produtos tornar-se-ão mais eficientes (MEHTA, 1997).

Ao produzir um medicamento, lança-se mão de recursos tecnológicos previamente estabelecidos e o mesmo, se necessário, é manipulado em condições especiais que lhe assegure uma completa proteção contra os fatores ambientais. Ao deixar o laboratório produtor, o medicamento passa a sofrer maiores influências do ambiente. Por outro lado, é necessário que o mesmo mantenha seus caracteres organolépticos, sua atividade farmacológica e sua segurança durante o período que se encontra no mercado e até o final de sua utilização pelo consumidor.

O tempo de vida útil de um medicamento é aquele período em que o mesmo se mantém em condições de uso, conservando as características iniciais, tais como: concentração da substância ativa em, no mínimo 90%, do valor rotulado, eficácia terapêutica, segurança, características farmacológicas e caracteres organolépticos.



A determinação do tempo de vida útil é realizada através de estudos de estabilidade, utilizando-se condições experimentais drásticas e, através dos dados obtidos, extrapolam-se valores para condições normais ambientais. Os processos de envelhecimento acelerado fundamentam-se na determinação da velocidade de degradação nas condições experimentais utilizadas.

Neste sentido, os pesquisadores têm colaborado de forma decisiva para a atuação do profissional farmacêutico, desenvolvendo e validando métodos analíticos e estudos de estabilidade adequados aos novos fármacos e suas formas farmacêuticas presentes no mercado e que não apresentam estudos descritos, como é o caso da cefpiroma comercializada na forma de pó para solução injetável, objeto de estudo deste trabalho.

A cefpiroma é um antibiótico  $\beta$ -lactâmico de amplo espectro, do grupo das cefalosporinas, de grande utilização como parte do arsenal terapêutico mundial para o tratamento das sepseas, hospitalares ou não (TAVARES, 1996).

Por ser um medicamento essencialmente de uso hospitalar e em quadro de alta debilidade do paciente, a cefpiroma é comercializada na forma farmacêutica pó para solução injetável e tem o seu registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), desde 1994 (BRASIL, 2007).

Apesar da sua disponibilidade comercial, a cefpiroma não apresenta métodos de análise, nem de estudo de estabilidade da forma farmacêutica, relatados na literatura científica pertinente, prejudicando, assim, o controle adequado da qualidade deste fármaco.

Com base nestas informações, planejou-se desenvolver e validar métodos para controle de qualidade físico-químico e microbiológico da cefpiroma, bem como estudar a estabilidade deste fármaco.



---

## 2 OBJETIVOS



## 2.1 - Objetivo Geral

Desenvolver e validar metodologia analítica para o controle de qualidade da cefpiroma na substância química de referência (SQR) e na forma farmacêutica pó para solução injetável, bem como o estudo da estabilidade deste fármaco.

## 2.2 - Objetivos Específicos

- Determinar qualitativamente a cefpiroma na substância química de referência (SQR), utilizando a espectrofotometria na região do infravermelho e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$ .
- Desenvolver metodologia analítica para a determinação qualitativa da cefpiroma na forma farmacêutica pó para solução injetável, utilizando a espectrofotometria nas regiões do infravermelho e do ultravioleta, cromatografia em camada delgada e cromatografia líquida de alta eficiência;
- Desenvolver e validar metodologia analítica para a determinação quantitativa da cefpiroma na forma farmacêutica pó para solução injetável, utilizando a espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta e cromatografia líquida de alta eficiência;
- Estabelecer método microbiológico de doseamento da cefpiroma na forma farmacêutica pó para solução injetável;
- Analisar comparativamente os métodos propostos;
- Determinar o fator ou fatores que podem alterar a estabilidade da cefpiroma na forma farmacêutica solução injetável;
- Realizar o isolamento e a caracterização de possível(is) produto(s) de degradação da cefpiroma.



---

# 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA





A vitória dos antibióticos sobre as doenças infecciosas celebra a maior batalha travada até hoje entre diferentes seres vivos. Na verdade, a luta arditamente armada pelo homem entre fungos e bactérias tem salvado mais vidas do que as guerras têm sido capazes de dizimar.

Desde o seu aparecimento sobre a Terra, o homem tem na agressão de outros seres vivos a sua principal causa de morte. Embora o homem tenha, há muito, usado gato para se ver livre de ratos, foi só no século passado, com Jenner e Pasteur, que a idéia de levar o antagonismo biológico ao campo microscópico passou a ser explorada. Ao longo desta linha de trabalho, as primeiras vitórias colhidas foram as vacinas; a segunda, os antibióticos (RIGATTO, 1994).

Os méritos dos antibióticos não se limitam à capacidade de curar ou reduzir a gravidade de inúmeras infecções, mas, também, à área da profilaxia.

Em 1928, Alexander Fleming, estudando variantes de estafilococos no laboratório do St. Mary's Hospital, observou que um fungo, *Penicillium notatum*, ao contaminar uma das culturas, causava lise das bactérias em sua vizinhança. Como esse fungo pertencia ao gênero *Penicillium*, Fleming deu o nome de Penicilina à substância antibacteriana. Desse modo, iniciou-se uma era revolucionária na terapêutica que ainda continua até a atualidade (MANDELL e PETRI, Jr., 1996).

Embora uma série de antibióticos tenha sido produzida desde a penicilina, esta continua sendo muito empregada e muitos derivados de seu núcleo básico, ácido 6-aminopenicilânico (Figura 3.1), são produzidos a cada ano.

Foi verificado que os fungos *Cephalosporium* produzem vários antibióticos que possuem uma estreita semelhança com o núcleo básico das penicilinas, porém resistentes à beta-lactamase e ativos contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. Assim, foram desenvolvidos métodos para produção em larga escala de um núcleo comum, ácido 7-aminocefalosporânico (Figura 3.1), acarretando, por conseqüência, produção de grande variedade de cefalosporinas com diversas propriedades (JAWETZ, 1998; RANG *et al.*, 1997).

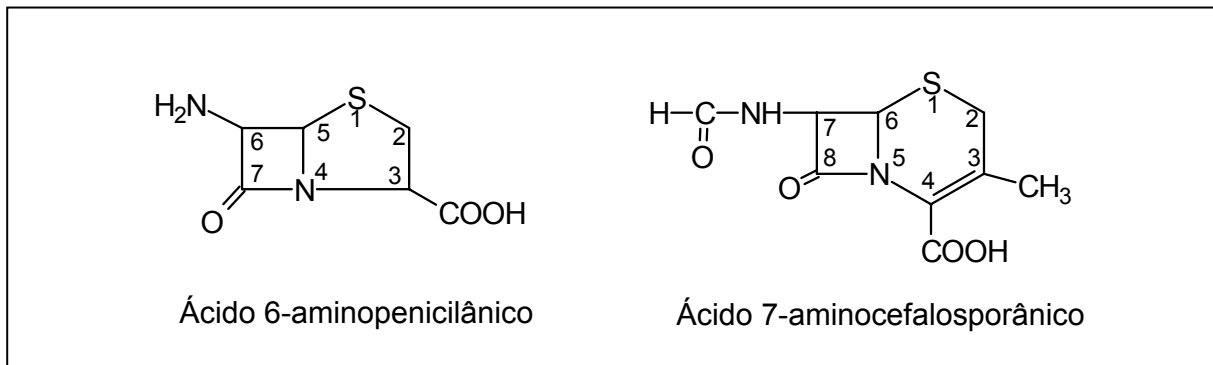


Figura 3.1 - Estruturas químicas do ácido 6-aminopenicilânico e do ácido 7-aminocefalosporânico (JAWETZ, 1998).

De acordo com certas características, as cefalosporinas se classificam em compostos da primeira, segunda, terceira e quarta geração. Na primeira geração, encontram-se os antibióticos que iniciaram este grupo, caracterizados por um espectro de atividade mais estreito do que as cefalosporinas de segunda, terceira e quarta gerações. A segunda geração tem maior atividade contra bactérias entéricas Gram-negativas, em comparação com as da primeira geração. As cefalosporinas de terceira geração possuem espectro antibacteriano ainda mais amplo contra as bactérias Gram-negativas, inclusive contra bactérias resistentes a outras cefalosporinas, têm relativa estabilidade na presença de beta-lactamase e são, entretanto, menos ativas contra bactérias Gram-positivas. As cefalosporinas de quarta geração, além da eficácia contra bastonetes Gram-negativos, incluindo a *Pseudomonas aeruginosa*, possuem eficácia considerável contra Gram-positivos, especialmente estafilococos e enterococos. Dentro deste grupo, um dos principais compostos é a cefpiroma (Figura 3.2) (ROCHA, 1994).

As cefalosporinas de quarta geração têm afinidade muito reduzida às beta-lactamases da classe I (cromossômicas desreprimida) e maior permeabilidade através da membrana externa bacteriana, quando comparadas com as cefalosporinas de terceira geração. Os aprimoramentos conseguidos com este grupo deram maior estabilidade contra *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonas aeruginosa* mutantes que produzem beta-lactamase cromossômica desreprimida de maneira constitutiva, isto é, que não necessitam mais ser “induzidas” para produzir essas potentes enzimas (SADER e JONES, 1995).

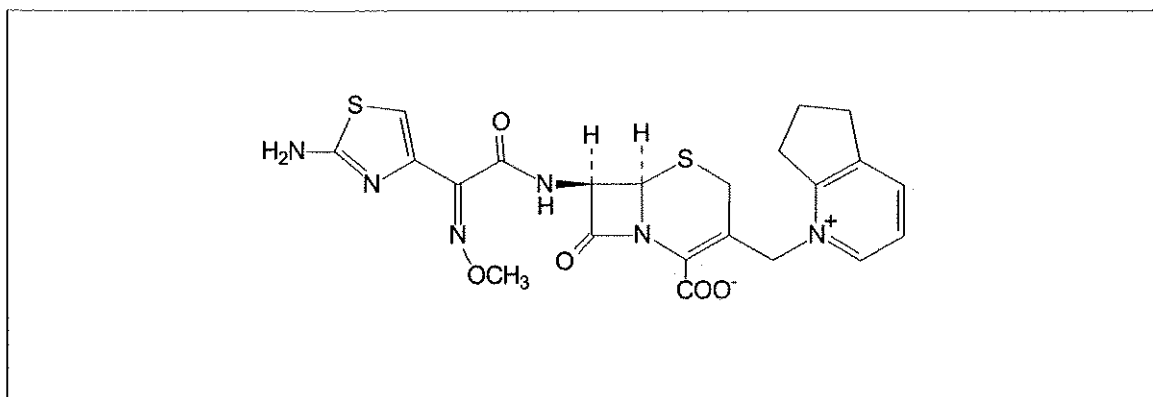


Figura 3.2 - Estrutura química da cefpiroma (THE MERCK INDEX, 2001).

A atividade antimicrobiana pode ser afetada pela ligação do fármaco às proteínas séricas, especialmente quando esta for superior a 95%. A determinação da atividade bactericida do soro (SBA) é um importante teste usado para comparação de características farmacodinâmicas de diferentes agentes antimicrobianos, pois esta técnica permite a análise da integração de características farmacocinéticas do fármaco com fatores antimicrobianos do plasma. Estudos comparando SBA de antibióticos de amplo espectro contra *Staphylococcus aureus* e *Enterobacter cloacae* mostraram que cefpiroma possui SBA mais potente que aquela demonstrada por outras cefalosporinas de amplo espectro, tais como ceftazidima e ceftriaxona (terceira geração). Contra *Pseudomonas aeruginosa* os melhores resultados foram conseguidos com ceftazidima e cefpiroma (SADER e JONES, 1995).

A cefpiroma é um agente injetável de espectro ampliado, cuja atividade engloba diversos patógenos envolvidos nas infecções adquiridas em hospitais como Enterobacteriáceas, Estreptococos do grupo *viridans*, *Staphylococcus aureus* metilcilinossensível e Estafilococos coagulase-negativos. A cefpiroma apresenta, também, atividade *in vitro* contra *Streptococcus pneumoniae* independentemente da sensibilidade à penicilina. Ela é estável contra a maioria das beta-lactamases mediadas pelos plasmídeos e cromossomas, com exceção das enzimas SHV de espectro ampliado, mediadas pelos plasmídeos (WISEMAN e LAMB, 1997).

A cefpiroma intravenosa na dose de 2 g duas vezes ao dia demonstrou eficácia clínica comparável àquela da ceftazidima 2 g três vezes ao dia no

---

# 7 CONCLUSÕES GERAIS



- ✓ A análise por espectrofotometria no infravermelho e por espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio, de carbono, juntamente com espectros de correlação, permitiram a caracterização da cefpiroma SQR;
- ✓ Os métodos cromatográficos em camada delgada, espectrofotometria no ultravioleta e no infravermelho, cromatografia líquida de alta eficiência são adequados para a identificação da cefpiroma na forma farmacêutica pó para solução injetável;
- ✓ A determinação quantitativa da cefpiroma na forma farmacêutica pó para solução injetável, por espectrofotometria na região do ultravioleta a 271 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 M como solvente, demonstrou-se específico, linear, preciso, exato, sensível e robusto;
- ✓ A cromatografia líquida de alta eficiência, nas condições experimentais estabelecidas, demonstrou-se específica, linear, precisa, exata, sensível e robusta para quantificação da cefpiroma na forma farmacêutica pó para solução injetável;
- ✓ O ensaio microbiológico, método difusão em ágar - cilindros em placa, nas condições experimentais estabelecidas, demonstrou especificidade, linearidade, precisão, exatidão e robustez para quantificação da cefpiroma na forma farmacêutica pó para solução injetável;
- ✓ A comparação dos métodos propostos para determinação quantitativa da cefpiroma na forma farmacêutica pó para solução injetável não apresentaram diferenças estatisticamente significativas;
- ✓ O estudo preliminar de estabilidade da cefpiroma na forma farmacêutica pó para solução injetável, após a sua reconstituição, mostrou instabilidade do fármaco à temperatura de 40 °C e luz UVC-254 nm;

- ✓ Os resultados obtidos na avaliação da cinética de estabilidade térmica indicam tratar-se de uma reação de primeira ordem; a velocidade de degradação de cefpiroma em solução aquosa (50 mg/ml) foi de  $0,0137 \text{ horas}^{-1}$  e o tempo de vida útil de 7,6 horas;
- ✓ Os resultados obtidos na avaliação da cinética de estabilidade fotoquímica indicam tratar-se de uma reação de primeira ordem; a velocidade de degradação de cefpiroma em solução aquosa (0,6 mg/ml) foi de  $0,0102 \text{ minutos}^{-1}$  e o tempo de vida útil de 10,20 minutos;
- ✓ O produto de degradação isolado, oriundo da estabilidade térmica, denominado como PDT 1, foi identificado, por espectroscopia de ressonância magnética nuclear, espectroscopia na região do infravermelho e espectroscopia de massa, como sendo um sal duplo de sulfato de ciclopenteno-piridina, com nome químico de sulfato de *6-7-diidro-5H-ciclopenta[b]piridinium*.





---

## 8 REFERÊNCIAS



ALLEN Jr, L. V.; STILES, M. L.; PRINCE, S. J.; SYLVESTRI, M. F. Stability of Cefpirome Sulfate in the Presence of Commonly Used Intensive Care Drugs During Simulated Y-Site Injection. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 52, n.21, p. 2427-2433, 1995.

ASSOCIATION of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 15 ed. Arlington, 1990. V.1.

AYRES, G. H. Evaluation of Accuracy in Photometric Analysis. **Analytical Chemistry**, v. 21, p. 652-657, 1949.

BADAWY, I. F.; GAWRONSKI, A. J.; ALVAREZ, F. J. Application of Sorption-Desorption Moisture Transfer Modeling to the Study. Of Chemical Stability of a Moisture sensitive Drug Product in Different Packaging Configurations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 223, p. 1-13, 2001.

BAKSHI, M.; SINGH, S. Development of Validated Stability-Indicating assay Methods – Critical Review. **Journal of Pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 28, p.1011-1040, 2002.

BARNAUD, G.; LABIA, R., RASKINE, L.; SANSON-LE PORS, M. J.; PHILIPPON, A.; ARLET G. Extension of Resistance to Cefepime and Cefpirome Associated to a Six Amino Acid Deletion in the H-10 Helix of the Cephalosporinase of an *Enterobacter cloacae* Clinical Isolate. **FEMS Microbiology Letter**, v. 195, n. 2, p.185-190, 2001.

BERBERICH, J.; DEE, K. H.; HAYAUCHI, Y.; PÖRTNER, C. A New Method to Determine Discoloration Kinetics of Uncoated White Tablets Occurring During Stability Testing – An Application of Instrumental Color Measurement in the Development Pharmaceutics. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 234, p.55-66, 2002.

BERGERET, M.; RAYMOND, J. In-Vitro Bactericidal Activity of Cefpirome and Cefamandole in Combination with Glycopeptides Against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 43, p. 291-294, 1999.

BIAM. Banque de Données Automatisée sur les Médicaments. Paris, França. **Cefpirome Sulfate**. Disponível em: <<http://www.biam2.org/www/Sub4997.html>>. Acesso em: 15.4. 2007.

BOYD, D. B. Electronic Structure of Cephalosporins and Penicillins. 15. Inductive Effect of the 3-Position Side Chain in Cephalosporins. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 27, n. 1, p. 63-66, 1984.

BRANCH, S. K.; CASY, A. F.; LIPCZYNSKI, A.; OMINDE, E. M. A. Carbon-13 NMR of  $\beta$ -Lactam Antibiotics and Related Compounds. **Magnetic Resonance in Chemistry**, v. 24, p. 465-479, 1986.

BRASIL. Ministério da Saúde. Central de Medicamentos - CEME. **Boas Práticas de Fabricação de Produtos Farmacêuticos**. Brasília, 1990.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RDC nº 210, de 04 de agosto de 2003. Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos e seus Anexos. **Diário Oficial da União**, Brasília, 14 de agosto, 2003a. Seção 1.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RE nº 899, de 29 de Maio de 2003. Determina a publicação do “Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos”. **Diário Oficial da União**, Brasília, nº 108, 02 de Junho, 2003b. Seção 1.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. Resolução RE nº 01, de 29 de julho de 2005. Determina a publicação do “Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade”. **Diário Oficial da União**, Brasília, 01 de agosto, 2005. Seção 1.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. **Consulte os Produtos Registrados das Empresas de Medicamentos e Hemoderivados, 2007**. Disponível em <[http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta\\_Produto/rconsulta\\_produto\\_detalhe.asp](http://www7.anvisa.gov.br/datavisa/Consulta_Produto/rconsulta_produto_detalhe.asp)>. Acesso em 15.4.2007.

BREILH, D.; LAVALLEE, C.; FRATTA, A.; DUCINT, D.; CONY-MAKHOUL, P.; SAUX M.,C. Determination of Cefepime and Cefpirome in Human Serum by High-Performance Liquid Chromatography Using an Ultrafiltration for Antibiotics Serum Extraction. **Journal of Chromatography B**, v. 734, p.121–127, 1999.

BRITISH Pharmacopoeia. 2005 London: The Stationery Office, 2005.

BUNDGARRD, H. Hydrolysis and Intramolecular Aminolysis of Cephalexin and Cephaloglycin in Aqueous Solution. **Arch. Pharm. Chem. Sci. Educ.**, v. 4, p. 25-43, 1976.

\_\_\_\_\_. Isolation and Characterization of Cephalexin Degradation Products Formed in Neutral Aqueous Solution, **Arch. Pharm. Chem. Sci. Educ.**, v. 5, p. 149-155, 1977.

BURGESS, J.; PERRY, M. J.; ROSA, E.; ILEY, J. The Carbohydrate-catalysed Hydrolysis of Cephalosporins. **Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2**, n.1, p. 97-101, 1994.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 4. Ed. Campinas: Ed. Unicamp, 1990.

DADGAR, D.; BURNETT, P. E. Issues in Evaluation of Bioanalytical Method Selectivity and Drug Stability. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 14, p. 23-31, 1995.

DINNER, A. Cephalosporin Degradations. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 20, n.7, p. 963-965, 1977.

DYRSTAD, K.; THOMASSEN, C.; EIVINDVIK, K. An Opportunistic Stability strategy; Simulation with Real data. **International Journal of Pharmaceutics**, v.188, p. 97-104, 1999.

ERMER, J. Validation in Pharmaceutical Analysis. Part I: An Integrated Approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 24, p. 755-767, 2001.

EUROPEAN Pharmacopoeia, 4th ed, Council of Europe, Strasburg 2002.

EVAGELOU, V.; TSANTILI-KALOULIDOU, A.; KOUPPARIS, M. Determination of the Dissociation Constants of the Cephalosporins Cefepime and Cefpirome using UV Spectrometry and pH Potentiometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 31, p. 1119-1128, 2003.

FARINA, A.; PORRÀ, R.; COTICHINI, V.; DOLDO, A. Stability of Reconstituted Solutions of Ceftazidime for Injections: an HPLC and CE Approach. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 20, p. 521-530, 1999.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4. Ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FELMINGHAM, D.; BROWN, D. F. Instrumentation in Antimicrobial Susceptibility Testing. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, p. 81-85, 2001.

FDA, Food and Drug Administration Code of Federal regulation. Washington: Office of the Federal Register, 1991. Parte 300 a 499.

FUKUTSU, N.; KAWASAKI, T.; SAITO, K.; NAKAZAWA, H. Application of High-Performance Liquid Chromatography Hyphenated Techniques for Identification of Degradation Products of Cefpodoxime Proxetil. **Journal of Chromatography A**, v. 1129, n. 2, p. 153-159, 2006.

GRDINIĆ, V.; VUKOVIĆ, J. Prevalidation in Pharmaceutical Analysis Part I. Fundamentals and critical discussion. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 35, p. 489-512, 2004.

GRIMM, W.; THOME, K. **Stability Testing of Drug Products**. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1987.

GROVE, D. C.; RANDALL, W. A. **Assay Methods of Antibiotics. A Laboratory Manual**, Medial Encyclopedia Inc., New York, NY, 1955, pp. 50-52.

HACKMANN, E. R. **Metodologia analítica no controle de qualidade de medicamentos**. Anexo 19. São Paulo: USP. Texto apresentado à Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, para concurso de livre docência, 1991.

HEWITT H., **Microbiological assay**: An introduction to quantitative principles and evaluation, New York: Academic Press, 1977.

HOLLENSTEIN, U.; BRUMNER, M.; MAYER, B.; DELACHER, S.; EROVIC, B.; EICHLER, H. G.; MÜLLER, M. Target site concentrations after continuous infusion and bolus injection of cefpirome to healthy volunteers. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v. 67, n. 3, p. 229-236, 2000.

ICH - International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: **Guideline for the photostability testing of new drug substance and products**. Commission of the European Communities. IFPMA, Switzerland, 1995.

\_\_\_\_\_ **Validation on Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)**. In: ICH Harmonised Tripartite Guideline. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for registration of Pharmaceuticals for Human Use, 2005.

JELIŃSKA, A.; DOBROWOLSKI, L.; OSZCZAPOWICZ, I. The Influence of pH, Temperature and Buffers on the Degradation Kinetics of Cefetamet Pivoxil Hydrochloride in Aqueous Solutions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 35, n. 5, p. 1273-1277, 2004.

JELIŃSKA, A.; DUDZIŃSKA, I.; ZAJAC, M.; OSZCZAPOWICZ, I.; KRZEWSKI, W. The Stability of Cefuroxime Axetil in Tablets. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 62, n.3, p. 183-187, 2005.

JELIŃSKA, A.; ZAJAC, M.; DOBROWOLSKI, L.; MEDENECKA, B.; RUCIŃSKI, P.; OSZCZAPOWICZ, I. Kinetics of Degradation of Cefetamet Pivaloyloxymethyl Ester and its Hydrochloride in Solid Phase. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v.60, n.6, p. 435-441, 2003.

JOUKHADAR, C.; KLEIN, N.; MAYER, B.X.; KREISCHITZ, N.; DELLE-KARTH, G.; PALKOVITS, P.; HEINZ, G.; MULLER M. Plasma and tissue pharmacokinetics of cefpirome in patients with sepsis. **Critical Care Medicine**, v. 30, n. 7, p. 1478-1482, 2002.

LACHMAN, L.; DELUCA, P.; AKERS, M. J. Testes de estabilidade e fundamentos de cinética química. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Lisboa: Fubdação Calouste Gulbenkian, 2001. v. 2, p. 1277-1355.

LLINÁS, A.; VILANOVA, B.; FRAU, J.; MUNÓZ, F. DONOSO, J.; PAGE, M. I. Chemical Reactivity of Penicillins and Cephalosporins. Intramolecular Involvement of the Acyl-Amido Side Chain, **The Journal of Organic Chemistry**, v. 63, p. 9052-9060, 1998.

KEARNS, G. L.; JOHNSON, V. A.; HENDRY I. R.; WELLS, T. G. Microanalytical High Performance Liquid Chromatographic Assay for Cefpirome in Human Milk and Urine. **Journal of Chromatography**. v. 574, p. 356 - 360, 1992.

KING, A.; BROWN, D. F. Quality Assurance of Antimicrobial Susceptibility Testing by Disc Diffusion. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 48, p. 71-76, 2001.

KOROLKOVAS, A. **Análise Farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1988.

\_\_\_\_\_. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. Ed. 2002/2003. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan LTDA, 2002.

JAWETZ, E. Penicilinas e Cefalosporinas. In: KATZUNG, B. G. **Farmacologia Básica e Clínica**. 6. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. Cap. 43, p. 518-527.

MANDELL, G. I.; PETRI, W. A, Jr. Antimicrobial Agents: Penicillins, Cephalosporins, and Other  $\beta$ -Lactam Antibiotics. In: HARDMAN, J. G. (Ed.). **Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 9. Ed. New York: The McGraw-Hill Companies, 1996. Cap. 45, p. 1073-1102.

MATTEWS, B. R. Regulatory aspects of stability testing in Europe. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 25, n.7, p. 831-856, 1999.

MEHTA, A. C. Quality Management in Drug Analysis. **Analyst**, v.12, p. 83R - 88R, 1997.

MLYNARCZYK, G.; MLYNARCZYK, A.; BILEWSKA, A.; DUKACZEWSKA, A.; GOLAWSKI, C.; KICMAN, A.; PUPEK, J.; SERAFIN, I.; LUCZAK, M. High effectiveness of the method with cefpirome in detection of extended-spectrum beta-lactamases in different species of gram-negative bacilli. **Medycyna Doswiadczalna i Mikrobiologia**, v. 58, n. 1, p. 59-65, 2006.

MRESTANI, Y.; HARTL, A.; NEUBERT, R. H. Influence of absorption enhancers on the pharmacokinetic properties of non-oral beta-lactam-cefpirom using the rabbit (Chinchilla) in vivo model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 309, n. 1-2, p. 67-70, 2006.

NIKOLOVSKI, M.; KOTSEV, I. U.; PANCHEV, P. Treatment with cefrom (cefpirom) in severe urological infections. **Khirurgiia (Sofia)**, v. 60, n. 4-5, p. 39-41, 2004.

NOLIN, T. D.; LAMBERT, D. A.; OWENS, R. C. Stability of Cefepime and Metronidazole Prepared for Simplified Administration as a Single Product. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 56, n. 2, p. 179-184, 2006.

NUDELMAN, N. E. E. **Estabilidad de Medicamentos**. Buenos Aires: El Ateneo, 1975.

OHLWEILER, O. A. **Química Analítica Quantitativa**. 3. ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos Científicos, 1984. V. 1.

PAGE, M. I. The Mechanisms of Reactions of  $\beta$ -Lactam Antibiotics. In \_\_\_\_\_ **Advances in Physical Organic Chemistry**. London: Academic Press Inc., 1987. V. 23.

PARVIN, Curtis A. Quality-Control (QC) Performance Measures and the QC Planning Process. **Clinical Chemistry**, v. 43, n. 4, p. 602 - 607, 1997.

PIKAL, M. J.; LUKES, A. L.; LANG, J. E. Thermal Decomposition of Amorphous  $\beta$ -Lactam Antibacterials. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 66, n. 9, p. 1312-1316, 1977.

PRETSCH, E.; BÜHLMANN, P.; AFFOLTER, C. **Structure Determination of Organic Compounds**. Berlin: Springer, 2000. 420 p.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**. 4. Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996. V.3.

RAJPUT, N.; DUMKA, V. K.; SANDHU, H. S. Disposition kinetics and urinary excretion of cefpirome after intravenous injection in buffalo calves. **Journal of Veterinary Science**, v. 8, n; 1, p. 21-25, 2007.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M. Agentes Antibacterianos. In: — **Farmacologia**. 3. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. Cap. 37, p. 572-592.

RIGATTO, M. O Papel dos Antibióticos na Medicina Contemporânea. In: SILVA, P. **Farmacologia**. 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. Cap. 97, p. 927-929.

ROCHA, H. O. Cefalosporinas. In: SILVA, P. **Farmacologia**. 4. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. Cap. 103, p. 1001-1005.

ROOS, J. F.; LIPMAN, J.; KIRKPATRICK, C. M. Population pharmacokinetics and pharmacodynamics of cefpirome in critically ill patients against Gram-negative bacteria. **Intensive Care Medicine**, Mar 7, 2007. In press.

SADER, H. S.; JONES, R. N. Cefalosporinas: Quatro Gerações de Evolução Estrutural. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 41, n. 2, p. 144 - 150, 1995.

SANTORO, M. I. R. M. **Introdução ao Controle de Qualidade de Medicamentos**. São Paulo: Atheneu, 1988.

SHAH, V. P.; MIDHA, K. K.; DIGHE, S.; MCGILVERAY, I. J.; SKELLY, J. P.; YACOBI, A.; LAYLOFF, T.; VISWANATHAN, C. T.; COOK, C. E.; McDOWALL, R. D.; PITTMAN, K. A.; SPECTOR, S. Analytical Methods Validation: Bioavailability, Bioequivalence, and Pharmacokinetic Studies. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, n. 3, p. 309 - 312, 1992.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6. Ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000. 460 p.

SOME, I. T.; BOAGAERTS, P.; HANUS, R. HANOCQ, M. DUBOIS, J. Incorporating Batch Effects in The Estimation of Drug stability Parameters Using Arrhenius Model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 184, p. 165-172, 1999.



SUGIOKA, T.; ASANO, T.; CHIKARAISHI, Y.; SUZUKI, E.; SANO, A.; KURIKI, T.; SHIROTSUKA, M.; SAITO, K. Stability and Degradation Pattern of Cefpirome (HR 810) in Aqueous Solution. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 38, n. 7, p. 1998 – 2002, 1990.

SWARTZ, W. E.; KRULL, I. S. Validação de métodos cromatográficos. **Pharmaceutical Technology**, v. 2, n. 3, p. 12-20, 1998.

TAVARES, W. **Manual de Antibióticos e Quimioterápicos Antiinfeciosos**. E. Ed. São Paulo: Atheneu, 1999. 792 p.

THE MERCK INDEX, 13.ed., Whitehouse Station, NJ: Merck and Co., 2001.

THE UNITED States Pharmacopeia. 30.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, Easton: Mack, 2007.

TØNNESEN, H. H. Formulation and Stability testing of Photolabile Drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 225, p. 1-14, 2001.

TØNNESEN, H. H.; KARLSEN, J. Standardisation of Photochemicals Stability Testing of Drugs. **Pharmeuropa**, v. 5, p. 5, 1993.

TUMAH, H. Fourth-generation cephalosporins: in vitro activity against nosocomial gram-negative bacilli compared with beta-lactam antibiotics and ciprofloxacin. **Chemotherapy**, n. 51, n.2-3,p. 80-85, 2005.

TUMAH, H. N., In vitro activity of cefepime and cefpirome compared to other third-generation cephem antibiotics against gram-negative nosocomial pathogens. **Pharmazie**, v. 59, n. 11, p. 854-858, 2004.

VANDER HEYDEN, Y.; NIJHUIS, A.; SMEYERS-VERBEKE, J; VANDEGINSTE, B. G. M.; MASSART, D. L., M. Guidance for Robustness/ Ruggedness Tests in Method Validation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 24, p. 723-753, 2001.

VISKY, D.; VANDER HEYDEN, Y.; IVÁNYI, T.; BATEN P.; De BEER, J.; KOVÁCS, Z. NOSZÁL, B.; DEHOUCK, P.; ROETS, E.; MASSART, D. L.; HOOGMARTENS, J. Characterisation of Reversed-Phase Liquid Chromatographic Columns by Chromatographic tests Rational Column Classification by a minimal number of Column Test Parameters. **Journal of Chromatography A**, v. 1012, p. 11-19, 2003.

YOSHIDA, Y.; SATO, E.; MOROI, R. Photodegradation Products of Levofloxacin in Aqueous Solution. **Arzneimittel Forschung Drug Research**, v.43 (I), n. 5, p. 601-606, 1993.

YOSHIOKA, S.; STELLA, V. J. **Stability of Drugs and Dosage Forms**. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 2000.

WISEMAN, L. R.; LAMB, H. M. Cefpirome. A Review of its Antibacterial Activity, Pharmacokinetic Properties and Clinical Efficacy in the Treatment of Severe Nosocomial Infections and Febrile Neutropenia. **Drugs**, v. 54, n. 1, p. 117 - 140, 1997.

ZAJAC, M.; JELIŃSKA, A.; DOBROWOLSKI, L.; OSZCZAPOWICZ, I. Evaluation of Stability of Cefuroxime Axetil in Solid State. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.32, n. 6, p. 1181-1187, 2003.

---

# 9 ANEXO



**Pareceres da Banca Examinadora****UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Nível: Doutorado


Área de concentração: PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MATERIAS – PRIMAS  
FARMACÊUTICAS

Título: Cefpiroma: Desenvolvimento e validação de métodos analíticos e estudo da  
estabilidade

Doutorando: TÉRCIO PASCHKE OPPE

**P A R E C E R**

O trabalho apresenta conteúdo e nível de originalidade suficiente para a obtenção de título de doutor em Ciências Farmacêuticas. Sob o aspecto formal, o texto está redigido segundo as normas da ABNT e o referencial teórico é adequado e pertinente ao tema. Em termos de conteúdo, a substância Cefpiroma foi analisada sob os aspectos analíticos quali e quantitativos e os métodos desenvolvidos foram validados pertinentemente. Correções menores relativas a pontuação e outras sugestões de organização do texto estão registradas no próprio trabalho e deverão ser realizadas, se acatadas, na versão final do trabalho.

  
Prof. Dr. Istefani Carisio de Paula  
Porto Alegre, 03 de agosto de 2007.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Nível: Doutorado

Área de concentração: PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MATERIAS – PRIMAS  
FARMACÊUTICAS

Título: Cefpiroma: Desenvolvimento e validação de métodos analíticos e estudo da  
estabilidade

Doutorando: TÉRCIO PASCHKE OPPE

PARECER

O tema de tese desenvolvido pelo pós-graduando Tercio P. Oppe descreve a avaliação analítica qualitativa e quantitativa e a análise de sua estabilidade.

A tese apresenta-se bem delineada e configura-se importante contribuição para o controle de qualidade desta substância.

Desta forma, o parecer é favorável à APROVAÇÃO e atribuição do título de Doutor ao graduando Tercio P. Oppe

  
Prof. Dr. Martin Steppe

Porto Alegre, 03 agosto 2007.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Nível: Doutorado

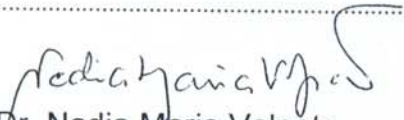
Área de concentração: PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MATERIAS – PRIMAS  
FARMACÊUTICAS

Título: Cefpiroma: Desenvolvimento e validação de métodos analíticos e estudo da  
estabilidade

Doutorando: TÉRCIO PASCHKE OPPE

PARECER

A tese intitulada "Cefpiroma: desenvolvimento e validação de métodos analíticos e estudo da estabilidade" de autoria de Tércio P. Oppe apresenta excelente redação, com bom planejamento experimental e resultados adequados aos propósitos do doutoramento. Diferentes técnicas para caracterização do fármaco são apresentadas e 3 métodos para análise quantitativa da cefpiroma foram validados, mostrando-se equivalentes quanto aos resultados fornecidos. No estudo da estabilidade do fármaco houve sucesso no isolamento e caracterização de um produto de degradação, proporcionando importante contribuição à ciência das cefalosporinas. Sendo assim, sou de parecer favorável a sua aprovação.

  
Prof. Dr. Nadia Maria Volpato  
Porto Alegre, 03, agosto de 2007.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Nível: Doutorado

Área de concentração: PESQUISA E DESENVOLVIMENTO DE MATÉRIAS – PRIMAS  
FARMACÊUTICAS

Título: **Cefpiroma: Desenvolvimento e validação de métodos analíticos e estudo da estabilidade**

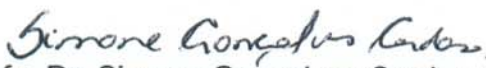
Doutorando: TÉRCIO PASCHKE OPPE

**P A R E C E R**

A tese abordou o desenvolvimento e validação de métodos analíticos e estudo de estabilidade do antibiótico cefpiroma, temas de relevância para a área das ciências farmacêuticas.

O estudo foi adequadamente estruturado, havendo coerência entre os objetivos, os resultados e as conclusões. Foram desenvolvidos e validados três métodos para quantificação da cefpiroma, contribuindo para o controle de qualidade do fármaco, que não possui, até o momento, monografia oficial. Um produto de degradação foi isolado e identificado através de técnicas espectroscópicas.

Com base no exposto, o parecer é favorável à aprovação da tese e a concessão do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas a Tércio Paschke Oppe.

  
Prof. Dr. Simone Gonçalves Cardoso  
Porto Alegre, 03 de agosto de 2007.



---

# 10 BIOGRAFIA



## CURRÍCULO RESUMIDO

### IDENTIFICAÇÃO

**Nome:** Tércio Paschke Oppe

**Naturalidade:** Teófilo Otoni – MG

**Data de nascimento:** 24 de novembro de 1966

### FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

1985 – 1990: Graduação em Farmacêutico Industrial - Universidade Federal de Minas Gerais (Belo Horizonte, MG).

1991 – 1995: Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre, RS).

2002 – 2007: Doutorado em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Porto Alegre, RS).

### ATUAÇÃO PROFISSIONAL

#### Universidade Luterana do Brasil - ULBRA

1993 – 1997: Professor adjunto do Curso de Farmácia, 40h.

Disciplinas ministradas: Química Analítica Qualitativa e Química Analítica Quantitativa

Atividades administrativas: Membro do Colegiado do Curso de Farmácia (3/1995 a 8/1997)

#### Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

1997 – Atual: Professor Assistente do Departamento de Produção e Controle de Medicamentos do Curso de Farmácia, 40 h, Dedicção Exclusiva.

Disciplinas ministradas: Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos e Cosméticos, Controle de Qualidade em Farmácia e Estágio em Indústria Farmacêutica.

Atividades administrativas e de extensão:

Membro do Colegiado do Curso de Farmácia (3/1995 a 8/1997);

Chefe de Departamento FAR02 (12/2000 – 7/2001);

Chefe Substituto de Departamento FAR02 (7/1998 – 12/2000);

Membro da Comissão de Pesquisa Fac. Farmácia (4/2001 – 3/2003);

Membro da Comissão de Avaliação da Progressão Funcional Docente com a Participação Discente FAR02 (7/1998 – atual);

Membro do Conselho da Unidade – Fac. Farmácia (12/1998 – 12/2000);

Membro da Comissão Coordenadora do Laboratório LCQFAR da Faculdade de Farmácia (9/1997 – atual);

Gerente de Qualidade do Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico (CDTF/UFRGS) (4/2003 – atual)

Colaborador da Farmacopéia Brasileira na UFRGS (certificação de Substâncias Químicas de Referência e revisão e elaboração de monografias) (10/1997-Atual).

### **ÁREAS DE ATUAÇÃO**

Farmácia, Análise e Controle de Medicamentos;

Desenvolvimento e Validação de Método Analítico;

Estudo de estabilidade de fármacos e medicamentos.

### **LINHAS DE PESQUISA**

Desenvolvimento, otimização e validação de métodos analíticos para fármacos e medicamentos;

Estudos de estabilidade de fármacos e medicamentos.

### **PRODUÇÃO CIENTÍFICA E ORIENTAÇÕES**

03 trabalhos originais completos publicados em Periódicos Indexados Nacionais e Internacionais;

21 trabalhos apresentados em congressos Nacionais e Internacionais;

15 orientações de iniciação científica;

26 orientações de trabalhos de conclusão de curso;

39 Participações em banca de trabalhos de conclusão (graduação);

02 Participações em bancas de comissões julgadoras (concursos públicos em Instituições Federais).