



Desenvolvimento de metodologia qualitativa para identificação de ceftazidima

Moreno, A.H.¹, Salgado, H.R.N.^{1*}

¹Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Departamento de Fármacos e Medicamentos, Universidade Estadual Paulista, UNESP, Araraquara, SP, Brazil

Recebido 25/02/2010 / Aceito 09/08/2010

RESUMO

A partir deste estudo, métodos para análise qualitativa foram desenvolvidos a fim de identificar ceftazidima em matéria-prima e em formulações farmacêuticas. Esses métodos incluíram testes físico-químicos baseados em propriedades químicas por reações clássicas de coloração e testes instrumentais, tais como cromatografia em camada delgada, calorimetria e espectroscopia no ultravioleta. Os resultados foram obtidos diretamente através de identificação visual pela coloração desenvolvida e pela análise dos espectros obtidos nos testes instrumentais. Esses métodos mostraram-se reprodutíveis e rápidos para identificar ceftazidima na presença de outros antibióticos β-lactâmicos, podendo ser usados rotineiramente em análises de controle de qualidade.

Palavras-chave: Análise qualitativa. Controle de qualidade. Ceftazidima.

INTRODUÇÃO

As cefalosporinas são agentes antimicrobianos resistentes às β-lactamases, utilizadas no tratamento de infecções bacterianas de diversos tipos e no tratamento de infecções cujos agentes antimicrobianos apresentam grande resistência (Martindale, 2006; Cavallo et al., 2007; Conil et al., 2007; Moreno & Salgado, 2007; Tozo & Salgado, 2007).

A ceftazidima é uma cefalosporina semissintética de terceira geração e de amplo espectro para administração parenteral. Corresponde ao (6R, 7R)-7-[[*(Z)*-2-amino-4-tiazolil]-2-[(1-carboxi-1-metiletoxi)imino]acetil]amino]-8-oxo-3-[(1-piridíno)metil]-5-tia-1-azabicyclo[4.2.0]-2-octeno-2-carboxilato penta-hidratado e sua fórmula

empírica é C₂₂H₃₂N₆O₁₂S₂, com peso molecular de 636,6 g/mol (The Merck Index, 2006). Além disso, possui ação bactericida, exercendo seu efeito pela inibição das enzimas responsáveis pela síntese da parede celular, sendo que uma ampla faixa de microrganismos Gram-negativos mostra-se susceptível à ceftazidima *in vitro*, incluindo aqueles resistentes à gentamicina e outros aminoglicosídeos, e ativa contra microrganismos Gram-positivos (Myers & Blumer, 1983; Hardman & Limbird, 2006). A estrutura química da ceftazidima está representada na Figura 1.

A ceftazidima é comercializada no Brasil na forma de pó para solução injetável. São elas: Ceftazidon[®] (Ariston), Cetaz[®] (União Química), Fortaz[®] (Glaxo Wellcome), Betanex[®] (Biochimica), Ceftazidima[®] (Bergamo), Kefadim[®] (Eli Lilly do Brasil) e Tazidem[®] (Eurofarma) (Pereira, 2002).

A literatura destaca vários métodos para determinação de cefalosporinas baseados na complexação de determinados reagentes com o fármaco, originando compostos coloridos que podem ser identificados visível ou espectrofotometricamente (Feigl, 1966; Ródenas et al., 1997; Martinez et al., 2002; El-Mammly, 2003; Amin & Ragab, 2004; Moreno & Salgado, 2008a). Assim, considerando a estrutura química da ceftazidima, o objetivo do presente trabalho foi selecionar e desenvolver procedimentos específicos de identificação para caracterização estrutural do fármaco estudado, principalmente do anel β-lactâmico e da piridina, grupamento seletivo, presente na molécula de ceftazidima.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção e preparo das amostras

Foram utilizadas amostras comerciais (pó para solução injetável) e substância de referência (lote 03073321), identificada como CSR, as quais foram gentilmente cedidas pela Ariston Química e Farmacêutica Ltda (São Paulo, Brasil). As amostras comerciais apresentaram valor nominal de 1000 mg de ceftazidima como base anidra e carbonato de sódio como excipiente. A substância de

Autor correspondente: Profa. Dra. Hérica Regina Nunes Salgado Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Departamento de Fármacos e Medicamentos - Rodovia Araraquara-Jaú, km 1 - CEP.14801-902 - Araraquara - SP - Brasil - e-mail: salgadoh@fcfar.unesp.br

referência (CSR) apresentou pureza declarada de 99,98%, a água purificada utilizada no preparo das soluções foi obtida pelo sistema Milli-Q (Millipore®, São Paulo) e todos os reagentes e solventes utilizados foram de grau analítico.

Caracterização da matéria-prima

a) Espectroscopia de absorção no infravermelho:

os espectros de infravermelho foram obtidos com espectrofotômetro Shimadzu IR, modelo FTIR 3000, com digitalização dos espectros (região de 500-4000 cm^{-1} e 2 cm^{-1} de intervalo). As pastilhas foram preparadas a partir da mistura de 5 mg de ceftazidima (substância de referência e amostras) e 150 mg de brometo de potássio, previamente triturado e dessecado em estufa a 105°C até peso constante.

b) Análise térmica: as medidas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram realizadas em cadinhos de alumínio, com taxa de aquecimento 10°C/min e fluxo de N_2 , e o equipamento utilizado foi o DSC DTA, 2910. As curvas de termogravimetria (TG) e de análise térmica diferencial (DTA) foram obtidas através de análise térmica simultânea (SDT Q 600, TA Instruments) no Instituto de Química da Universidade Estadual Paulista de Araraquara (SP). A faixa de temperatura utilizada foi de 0 a 800 °C, sob atmosfera dinâmica de ar (vazão de 90 mL/min) e de nitrogênio (vazão de 90 mL/min), razão de aquecimento de 10°C/min e massa de amostra de aproximadamente 5 mg. A amostra foi acondicionada em cadinho de alumínio hermeticamente fechado e, como substância de referência, foi utilizado Al_2O_3 .

c) Espectroscopia na região do ultravioleta:

os espectros de ultravioleta foram obtidos com espectrofotômetro UV-Vis JAS.CO 7800 utilizando-se cubetas de quartzo de 1 cm de espessura. As leituras foram realizadas entre 200 e 400 nm, sendo determinadas em soluções preparadas em diversos solventes, tais como água, metanol, etanol e soluções diluídas de hidróxido de sódio 0,1 mol/L e de ácido clorídrico 0,1 mol/L.

d) Reações de identificação: considerando a estrutura química da ceftazidima, representada na Figura 1, foram realizadas reações químicas com reagentes específicos para caracterização estrutural dos fármacos, principalmente do anel β -lactâmico (cefalosporina) e da piridina. Porém, uma das etapas preliminares para os procedimentos analíticos de identificação de cefalosporinas é a degradação hidrolítica do anel β -lactâmico para posterior complexação com o reagente de coloração específico (Martinez et al., 2002). O ensaio de degradação consiste na hidrólise ácida ou alcalina do fármaco quando uma solução aquosa do mesmo é aquecida até ebulição durante cerca de 20 minutos. Para tanto, o equivalente a 20 mg do fármaco foi pesado e dissolvido em 10 mL de solução de ácido sulfúrico (4,5 mol/L). A solução foi aquecida até a ebulição em banho-maria durante 20 minutos e, após, foi arrefecida, neutralizada com solução de hidróxido de sódio (6,0 mol/L) e o volume final completado com água purificada em frasco de 100 mL.

e) Reações de caracterização de cefalosporinas:

a literatura destaca vários métodos para determinação de cefalosporinas, baseados na complexação de reagentes cromogênicos com o fármaco, originando compostos coloridos que podem ser determinados visível ou

espectrofotometricamente. É o caso de reações com cloridrato de hidroxilamina, ninidrina, vanadato de amônio, molibdato de amônio, ácido fosfomolibdico, 2-nitrofenilhidrazina, imidazol, acetilacetonaformaldeído, nitrato de cobalto, cromotrope 2B, sulfato de cério e amônio, íons ferro (III), ácido pícrico, 2-dinitrofenol, *p*-nitrofenol, fenilhidrazina e outros (Martinez et al., 2002). Foram selecionadas três reações de caracterização de cefalosporinas: ensaio com íons ferro (III), ensaio com íons cobre (II) e ensaio com molibdato de amônio.

Para a reação com íons ferro (III), a 1 mL das soluções da substância de referência e da amostra degradadas conforme procedimento descrito anteriormente, foram adicionados 1 mL de solução de sulfato férrico amoniacal (0,001 mol/L) e 0,5 mL de solução de *o*-fenantrolina (0,020 mol/L).

Para a reação com molibdato de amônio, foi utilizado um volume de 10 mL das soluções da substância de referência e da amostra degradadas, conforme procedimento descrito anteriormente, e a ele foi adicionado 1 mL da solução de H_2SO_4 25% (v/v) e 5 mL de solução de molibdato de amônio 2% (p/v). Em seguida, as amostras foram aquecidas em banho-maria durante 30 minutos e, após, arrefecidas.

Para a reação com íons cobre (II), soluções de ceftazidima (substância de referência e amostra) a 30 $\mu\text{g/mL}$ preparadas em tampão citrato (pH = 4,2), foram adicionados 1 mL da solução de cloreto de cobre (0,005 mol/L) e 1 mL da solução de neocuproína (0,010 mol/L). Em seguida, as soluções foram aquecidas em banho-maria durante 10 minutos e arrefecidas.

f) Reações de caracterização da piridina: dentre as cefalosporinas comercializadas, a ceftazidima apresenta, em sua estrutura química, uma molécula de piridina, conforme Figura 1. Reações específicas para determinação de piridina tornam o ensaio de identificação de ceftazidima seletivo quando comparado com as demais cefalosporinas, uma vez que praticamente todas respondem apenas aos ensaios gerais de identificação do anel β -lactâmico.

A tubos de ensaio contendo 2 mL de solução de ceftazidima (substância de referência e amostra) previamente degradadas foram adicionados 0,5 mL de solução de anilina 2,5% (v/v) e 0,5 mL de solução de cianogênio. Em outro tubo, foram adicionados 0,5 mL de solução de ácido barbitúrico (0,3 % p/v) e 0,5 mL de solução de cianogênio (British Pharmacopoeia, 1988). O resultado será positivo se houver desenvolvimento de coloração amarela e rósea nos tubos para substância de referência e amostra, respectivamente.

g) Cromatografia em camada delgada: a literatura não descreve metodologias para identificação de cefalosporinas por cromatografia em camada delgada (USP, 2008); apenas o ensaio de substâncias aparentadas (Farmacopéia Portuguesa, 2002; British Pharmacopoeia, 2005), que utiliza como fase móvel uma mistura de seis volumes de butanol, 26 volumes de solução tampão de acetato de sódio (pH 4,5), 32 volumes de acetato de butila e 32 volumes de ácido acético glacial, sendo as placas examinadas à luz ultravioleta de 254 nm.

As placas utilizadas para a identificação foram preparadas com sílica-gel de 60F (20 x 10 cm), com espessura de 0,25 mm, e ativadas a 105°C por 1 hora em

estufa. Foram dissolvidas em dimetilformamida R massas equivalentes a 50 mg da substância de referência e da amostra e o volume foi completado para 50 mL com o mesmo solvente. A fase móvel foi preparada utilizando-se butanol, tampão acetato de sódio pH 4,5, acetato de etila e ácido acético glacial (6:26:32:32, v/v).

Na execução do ensaio, primeiramente, procedeu-se à saturação da cuba cromatográfica com a mistura de solventes. As soluções contendo ceftazidima (substância de referência e amostra), recentemente preparadas, foram aplicadas na placa com auxílio de pipetador automático (10 µL) e procedeu-se ao ensaio. Após término da eluição, a placa foi retirada da cuba de vidro e seca em corrente de ar quente para ser examinada à luz ultravioleta de 254 nm e, logo em seguida, à exposição a vapores de iodo.

RESULTADOS

As amostras de ceftazidima em pó para solução injetável foram submetidas a ensaios de coloração específicos para caracterização de sua molécula, tais como anel β-lactâmico e piridina (Figura 1). Na reação com íons ferro (III), houve o desenvolvimento de coloração vermelha devido à oxidação da cefalosporina pelos íons ferro (III) produzindo ferro (II), o qual reagiu com *o*-fenantrolina gerando o composto de cor avermelhada. Na reação com molibdato de amônio, verificou-se o desenvolvimento de intensa coloração azul, comprovando a identificação do anel β-lactâmico presente na cefalosporina. Para a caracterização da piridina, verificou-se o desenvolvimento de coloração amarelo ouro e rósea para as reações com anilina e ácido barbitúrico, respectivamente. Na reação

com íons cobre (II), uma significativa coloração amarela foi desenvolvida somente pela adição de ceftazidima em uma mistura de Cu(II) e neocuproína, podendo ser considerada a evidência da formação de um complexo ternário Cu(II)-ceftazidima-neocuproína.

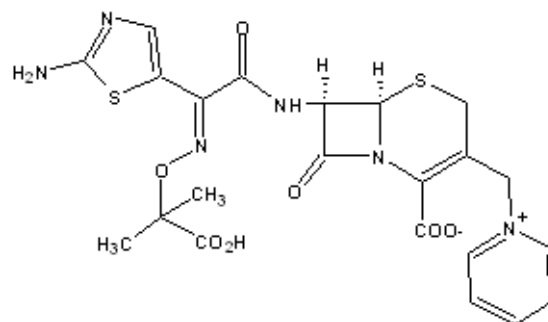


Figura 1. Estrutura química da ceftazidima (CAS 78558-82-8).

O espectro de absorção na região do infravermelho em pastilhas de KBr apresentou picos de absorção característicos de compostos cefalosporínicos. Por exemplo, as absorções em 3600-3250 são características da presença de N-H e O-H na molécula, bem como as absorções em 1750-1725 decorrentes dos grupamentos carboxílicos, além dos quatro picos característicos de anel aromático (piridina) em 1475-1600, ligações C-N entre 1000-1350 e o pico para carbonila (amida) em 1680-1630. Foi verificada também a correspondência entre as bandas para ceftazidima CSR e ceftazidima em pó para solução injetável (Figuras 2 e 3, respectivamente).

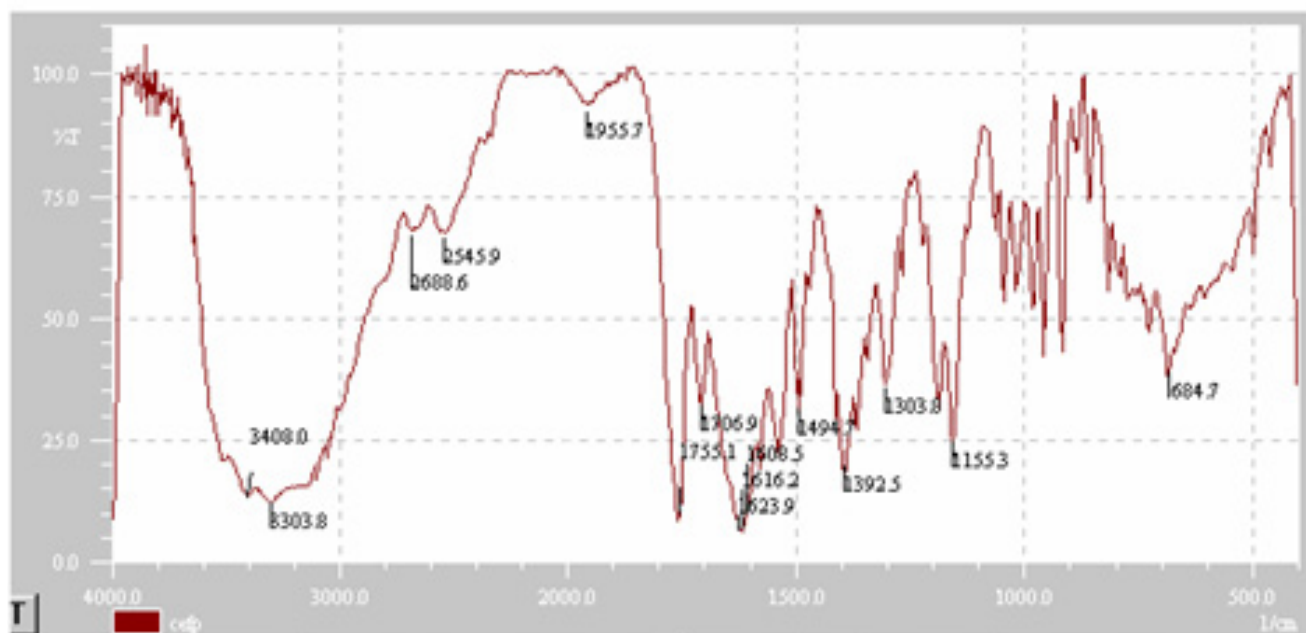


Figura 2. Espectro na região de infravermelho de ceftazidima CSR em pastilhas de brometo de potássio.



Figura 3. Espectro na região de infravermelho de ceftazidima em pó para solução injetável em pastilhas de brometo de potássio.

Os resultados dos estudos de análise térmica de ceftazidima, através da termogravimetria (TG) e análise térmica diferencial (DTA) em atmosfera de nitrogênio e ar sintético, estão apresentados nas Figuras 4, 5 e 6. A Figura 4 representa a curva de TG e DTA de ceftazidima sob atmosfera dinâmica de ar e a Figura 5 mostra a curva de TG e DTA de ceftazidima sob atmosfera de nitrogênio. A curva de DSC para a ceftazidima CSR e para ceftazidima em pó para solução injetável (Ceftazidon®) está representada na Figura 6.

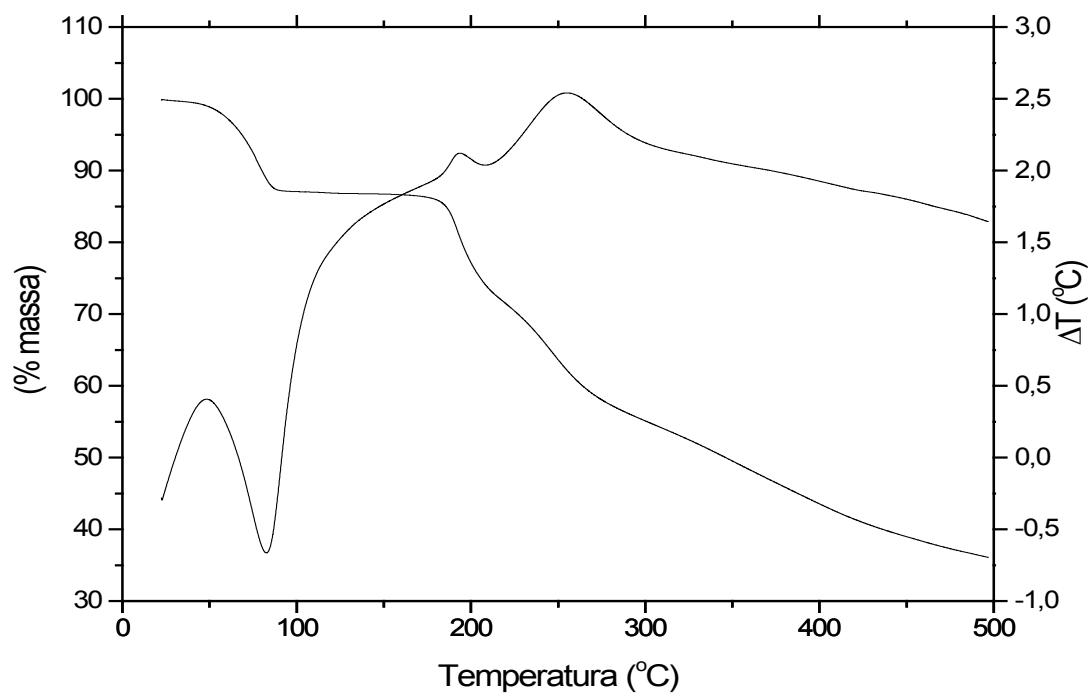


Figura 4. Curva de termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTA) de ceftazidima CSR sob atmosfera dinâmica de ar.

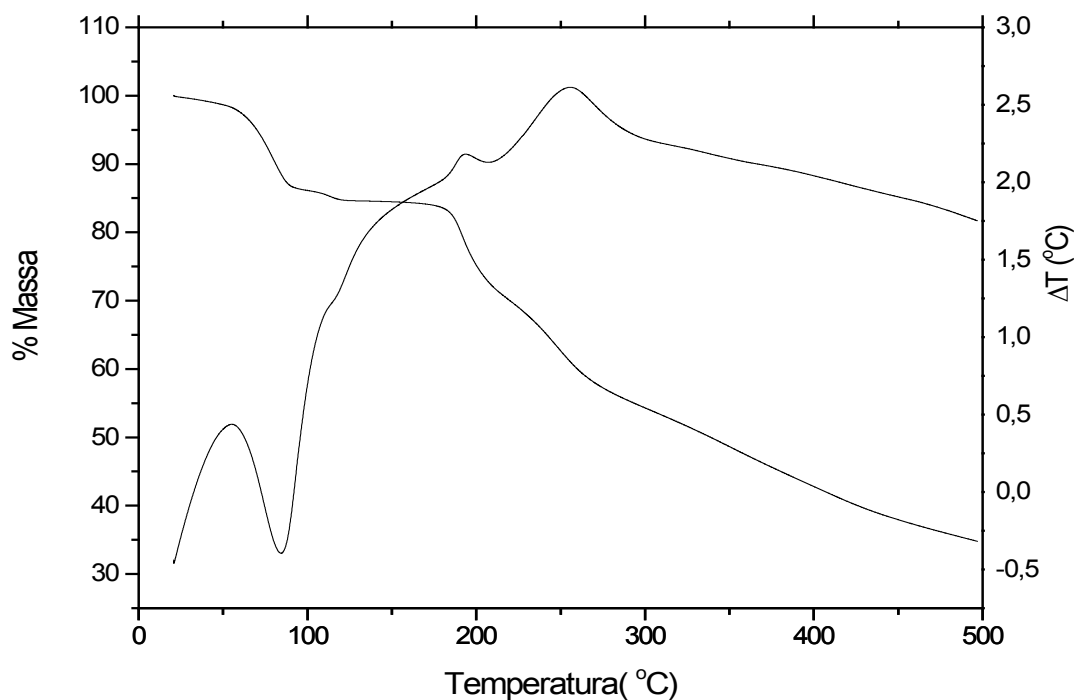


Figura 5. Curva de termogravimetria (TG) e termogravimetria derivada (DTA) de ceftazidima CSR sob atmosfera de nitrogênio.

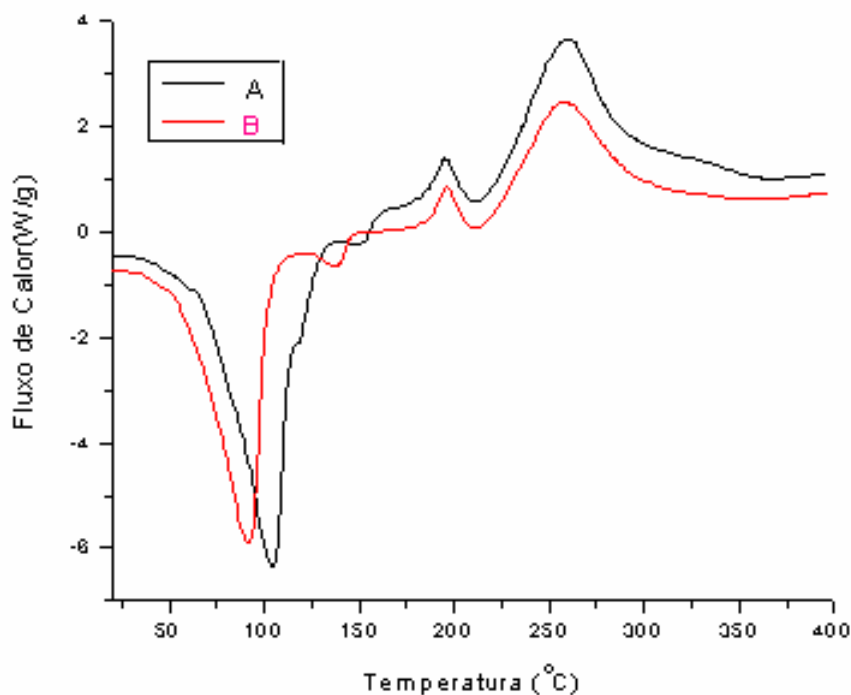


Figura 6. Curva de análise térmica diferencial (DSC) da ceftazidima CSR e ceftazidima em pó para solução injetável (B).

Na espectroscopia ultravioleta, a ceftazidima apresentou máximos de 245 nm e 254 nm utilizando-se soluções de ceftazidima CSR a 10 µg/ml em água, indicando a correspondência entre os espectros da substância de referência e amostra e comprovando a identificação positiva. Soluções contendo ceftazidima na concentração de 10 µg/mL foram preparadas em outros solventes, como metanol, etanol, NaOH 0,1 mol/L e HCl 0,1 mol/L. A obtenção de espectros em etanol não foi possível devido à baixa solubilidade do fármaco e não foram verificados máximos de absorção em soluções de NaOH e HCl, uma vez que as cefalosporinas se degradam em meio ácido ou alcalino com a ruptura do anel β-lactâmico.

Para a caracterização através de análise cromatográfica de ceftazidima, foi observado somente o aparecimento da mancha principal comparada com a substância de referência (CSR), com valor calculado de Rf igual a 0,462. As amostras aplicadas na concentração de 1 mg/mL são detectadas claramente por luz ultravioleta (254 nm), mas não por vapores de iodo. Portanto, as concentrações das amostras foram gradualmente aumentadas até serem detectadas pelos vapores de iodo, o que ocorreu na concentração de 5 mg/mL.

DISCUSSÃO

A identificação de fármacos é um quesito básico para eficácia e segurança do medicamento produzido. A inobservância dos critérios relativos à qualidade das matérias-primas empregadas na produção de medicamentos pode interferir na qualidade biofarmacêutica, sendo fundamental a realização das análises físico-químicas da matéria-prima a ser utilizada na fabricação dos medicamentos para certificar sua adequação aos compêndios farmacêuticos (Gil et al., 2005; Gomes & Salgado, 2005).

Os métodos de análise qualitativa, também conhecidos como métodos de identificação, são destinados à confirmação da identidade da matéria-prima ou de determinado componente de um produto. Porém, a validade desses ensaios depende, basicamente, da sua especificidade ou seletividade, devendo ser confiável, de baixo custo e de fácil realização. Além disso, reações químicas úteis em ensaios clássicos de identificação devem ser perceptíveis a olho nu, seja com mudança de cor, formação de precipitado ou produção de gás (Korolkovas, 1988).

Os métodos clássicos de identificação baseados em reações químicas de grupos funcionais importantes, embora não confirmatórios, são eliminatórios, uma vez que várias substâncias podem apresentar grupos funcionais em comum. Dentre as suas principais vantagens, destaca-se a redução do custo com instrumentação, porém, com as desvantagens da menor sensibilidade e o fato de não serem aplicáveis a misturas de fármacos com grupos comuns (Gennaro, 2004).

As reações com íons ferro (III), que geram composto de cor avermelhada com o reagente cromogênico *o*-fenantrolina, ocorrem devido à oxidação da cefalosporina pelos íons ferro (III), levando à formação de íons ferro (II); estes, por sua vez, reagem com *o*-fenantrolina e originam o composto de cor avermelhada.

O uso de soluções de molibdato de amônio, através do desenvolvimento de intensa coloração azul, comprova a identificação do anel β -lactâmico presente na cefalosporina. Deve ser ressaltado que essa reação é seletiva para compostos β -lactâmicos. Porém, não possui especificidade para distingui-los. Esse fato pode ser demonstrado através da aplicação do ensaio em outros fármacos que também possuem em suas moléculas o anel β -lactâmico, tais como ampicilina, amoxicilina, cefalexina, cefoxitina e cefuroxima, previamente degradadas em solução ácida conforme procedimento descrito anteriormente para ceftazidima.

A literatura destaca a clássica reação da piridina com o reagente cromogênico cianogênio na presença de anilina, resultando na formação de bases de Schiff coloridas, que

constituem a base de numerosos ensaios colorimétricos para determinação de piridina e seus derivados (Feigl, 1966). Destaca, ainda, a reação da piridina com o cianogênio na presença de solução de ácido barbitúrico, resultando em compostos de coloração rósea (Jungreis, 1984).

Na caracterização da piridina que origina compostos coloridos com anilina e ácido barbitúrico, o principal inconveniente das reações envolvendo o cianogênio é a toxicidade do reagente, sendo necessário realizar todo o procedimento em capela de exaustão. No entanto, a adoção de Boas Práticas de Laboratório veio ao encontro da formação de profissionais qualificados e preocupados com o meio ambiente. Dessa forma, o desenvolvimento de métodos de análise, que atendam os princípios de Boas Práticas de Laboratório, permite o estabelecimento de parâmetros que possibilitam avaliar todos os produtos em diferentes estágios de desenvolvimento, bem como produtos já comercializados (Mastroieni, 2006).

As amostras de ampicilina, amoxicilina, cefalexina, cefoxitina e cefuroxima não apresentaram desenvolvimento de coloração amarela ou rósea com o reagente cianogênio na presença de anilina ou ácido barbitúrico, respectivamente, pois não possuíam, em suas estruturas, a molécula de piridina, mas apresentaram identificação positiva para o anel β -lactâmico através do desenvolvimento de coloração azul com o molibdato de amônio.

Na reação com íons cobre (II), a intensidade máxima da coloração amarela foi obtida imediatamente após arrefecimento da mistura previamente aquecida em banho-maria (40°C) durante 10 minutos. O complexo ternário formou-se na faixa de pH 3,0-5,5 e o máximo de coloração desenvolvida ocorreu em pH 4,2. A reação mostrou-se específica para ceftazidima na presença de ampicilina, amoxicilina, cefalexina, cefoxitina e cefuroxima, cujos produtos de degradação também reagem com Cu(II). Os excipientes e diluentes presentes nas amostras de medicamentos não interferiram no ensaio no que se refere ao aspecto homogêneo de coloração desenvolvida.

Dessa forma, os ensaios realizados permitiram a rápida caracterização de algumas penicilinas e cefalosporinas amplamente comercializadas no mercado brasileiro, mostrando-se reproduzíveis para identificá-las e distingui-las, além de poderem ser adotados em análises rotineiras de controle de qualidade.

Os espectros de absorção no infravermelho podem ser usados para a identificação de compostos puros ou para a detecção e identificação de impurezas (Jeffrey et al., 1992). A maioria das aplicações refere-se a compostos orgânicos e pode ser encarada como uma espécie de "impressão digital" do composto (Watson, 1999; Harris, 2001; Ohannesian & Streeter, 2002). Através das análises efetuadas em pastilhas de brometo de potássio contendo ceftazidima (substância de referência e amostra) na região do infravermelho, foram obtidos os espectros, os quais foram comparados e analisados conforme dados apresentados na literatura (Silverstein et al., 2007). Os espectros obtidos estão representados nas Figuras 2 e 3.

Os métodos calorimétricos, usualmente referidos pelo termo análise térmica, incluem um grupo de técnicas em que uma propriedade física é medida como função do tempo ou da temperatura, sendo o objeto de investigação submetido a um programa controlado

de temperatura. Entre as informações de interesse farmacêutico que podem ser obtidas por essas técnicas, destacam-se a avaliação da pureza, o grau de hidratação, as compatibilidades, a termoestabilidade e identidade do fármaco. Assim, a análise térmica é, atualmente, uma poderosa ferramenta para o desenvolvimento e análise de formulações farmacêuticas. Geralmente, a instabilidade de um produto ou incompatibilidade entre os componentes de uma formulação pode ser caracterizada por processos exotérmicos (Hatakeyama & Quinn, 1994; Clas et al., 1999) Através da análise termogravimétrica (TG), mede-se a variação da massa de uma substância em função da temperatura ou do tempo sob um controle de temperatura programada. Na análise térmica diferencial (DTA), mede-se a diferença de temperatura entre a substância analisada e o material de referência quando ambos são submetidos a um controle de temperatura programado (Giron, 1998; Kandarapu et al., 2001).

As curvas de DTA e TG não apresentaram diferenças de comportamento nas condições utilizadas de atmosfera de ar ou nitrogênio. Nas curvas de DTA, foram observados picos endotérmicos em torno de 100°C, correspondentes à perda de água (desidratação), dado confirmado pelo pico endotérmico nas curvas de DSC obtidas para ceftazidima CSR e em pó para solução injetável (Figuras 4 e 5, respectivamente). As curvas de DTA apresentam, também, dois picos endotérmicos (198 e 270°C), atribuídos à decomposição do composto. Através das curvas TG, verifica-se perda de massa total em duas etapas, entre as temperaturas de 90°C e 198°C, sendo mais intensa e progressiva a partir de 198°C. As curvas de DSC, obtidas para ceftazidima CSR e em pó para solução injetável, apresentaram um pico exotérmico referente à desidratação e dois picos endotérmicos em 198°C e 270°C. A decomposição foi acompanhada de leve mudança de coloração a partir de 163°C (branco-amarelo) e, posteriormente, formação de bolhas e fusão a aproximadamente 270°C (Figura 6).

A espectroscopia na região do ultravioleta é um importante recurso utilizado na identificação e quantificação de substâncias, uma vez que está relacionada com a estrutura eletrônica da molécula. Baseia-se no fato de a absorvidade de um composto químico ser constante dependendo da intensidade da radiação incidente, da concentração e do caminho óptico, embora dependa de diversos outros fatores, como da estrutura molecular do composto, do solvente, da temperatura e do comprimento da radiação (Watson, 1999; Ohannesian & Streeter, 2002). É utilizada principalmente para a identificação de compostos químicos orgânicos, incluindo fármacos. Porém, é também largamente utilizada para o doseamento de fármacos (Ohannesian & Streeter, 2002). A relação entre a concentração do analito e a intensidade de luz absorvida é a base das aplicações da espectrofotometria.

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura, realizada através da distribuição destes entre duas fases, que estão em contato íntimo. Uma das fases permanece estacionária enquanto a outra fase move-se através dela. Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, os componentes da mistura são distribuídos entre as duas fases, de tal forma que cada um dos componentes é seletivamente

retido pela fase estacionária, resultando em migrações diferenciais destes componentes (Watson, 1999).

Atualmente, a cromatografia ocupa um lugar de destaque entre os métodos de análise devido à sua facilidade em efetuar separações, identificação e quantificação das espécies químicas, por si mesma ou em conjunto com outras técnicas instrumentais de análise como, por exemplo, a espectrofotometria ou a espectrometria de massas. Além disso, possibilita a escolha de fases estacionárias diferentes e adequadas para cada tipo de molécula, apresenta tempo de desenvolvimento relativamente curto, promove a fácil recuperação dos componentes separados e possui sensibilidade satisfatória, com separações extremamente nítidas e capazes de detectar quantidades muito menores que as manchas muito mais difusas, obtidas na cromatografia em papel (Collins et al., 1997; Marona & Schapoval, 2001; Lopes & Salgado, 2008; Moreno & Salgado, 2008b).

De acordo com os resultados obtidos (R_f igual a 0,462), usando vapores de iodo e luz ultravioleta para revelação das manchas, foi observado que a sensibilidade de detecção com luz ultravioleta mostrou-se cerca de cinco vezes maior que a sensibilidade de detecção com vapores de iodo.

As propriedades químicas e físico-químicas de um fármaco são, em muitos casos, determinantes no processo de controle de qualidade analítico, de maneira que a natureza química da molécula pode interferir favorável ou desfavoravelmente nos mecanismos de interação com outros substratos, tornando-a mais seletiva. Por outro lado, métodos diferenciados, simples ou complexos vêm surgindo a cada dia, na tentativa de tornar viável e mais operacional a rotina de análise de uma substância. Os ensaios realizados permitiram a rápida caracterização de ceftazidima (amplamente comercializada no mercado brasileiro) em matéria-prima e em preparações farmacêuticas, além de se mostrarem reprodutíveis para identificá-la e distingui-la, podendo ser adotados em análises rotineiras de controle de qualidade.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Ariston Química e Farmacêutica Ltda pela gentil doação dos medicamentos e substância de referência, ao CNPq, à FAPESP e ao PADC-FCF pelo apoio financeiro e à Maria de Fátima Rodrigues pelo apoio técnico.

ABSTRACT

Qualitative methods for the identification of ceftazidime

In this study, qualitative analytical methods were developed for the identification of ceftazidime in raw material and in pharmaceutical formulations. These methods included physicochemical tests based on chemical properties, performed by classical colorimetric reactions, and instrumental tests, such as thin-layer chromatography, calorimetry and ultraviolet spectroscopy. Results were obtained directly, through the visual identification of the drug by the color developed, and by analyzing the spectra obtained. These

methods proved to be reproducible and fast means of identifying ceftazidime in the presence of other beta-lactam antibiotics and may be used for routine quality control tests.

Keywords: Qualitative analysis. Quality control. Ceftazidime.

REFERÊNCIAS

- Amin AS, Ragab GH. Spectrophotometric determination of certain cephalosporins in pure form and in pharmaceutical formulations. *Spectrochim Acta* 2004;60:2831-5.
- British Pharmacopoeia. London: The Stationery Office, 1988. p.385-9.
- British Pharmacopoeia. London: The Stationery Office, 2005. v. 1, p.396-8.
- Cavallo JD, Hocquet D, Plesiat P, Fabre R, Roussel-Delvallez M. Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* to antimicrobials: a 2004 French multicentre hospital study. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(5):1021-4.
- Clas SD, Dalton CR, Hancock BC. Differential scanning calorimetry: applications in drug development. *Pharm Sci Tecnolo Today* 1999;2(8):311-20.
- Collins CH, Braga GL, Bonato PS. Introdução a métodos cromatográficos. 7. ed. Campinas: Unicamp; 1997. 342p.
- Conil JM, Georges B, Lavit M, Laguerre J, Samii K, Houin G, Saivin S. A population pharmacokinetic approach to ceftazidime use in burn patients: influence of glomerular filtration, gender and mechanical ventilation. *Br J Clin Pharmacol.* 2007;(22):245-50.
- El-Mammlí MY. Spectrophotometric determination of flucoxacillin in pharmaceutical preparations some nitrophenols as a complexing agent. *Spectrochim Acta* 2003; 59:771-6.
- Farmacopéia Portuguesa. 6. ed. Lisboa: Imprensa Nacional; 2002. p.166-168.
- Feigl F. Spot tests in organic analysis. Amsterdam: Elsevier Science Publishing Company; 1966. 859p.
- Gennaro AR. Remington: a ciência e a prática da farmácia. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004. 2208p.
- Gil ES, Orlando RM, Matias R, Serrano SHP. Controle físico-químico de qualidade de medicamentos. Campo Grande: Uniderp; 2005. 438p.
- Giron D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals. *Pharm Sci Tecnolo Today* 1998;(6):262-8.
- Gomes GC, Salgado HRN. Análise qualitativa de lomefloxacino HCl em matéria-prima e comprimidos revestidos de 400 mg. *Rev Bras Farm.* 2005;86(2):57-60.
- Hardman JG, Limbird LE. The pharmacological basis of therapeutics. 10th ed. New York: McGraw-Hill; 2006. 1647p.
- Harris D. Análise química quantitativa. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC; 2001. 862p.
- Hatakeyama T, Quinn FX. Thermal analysis: fundamentals and applications to polymer. New York: John Wiley & Chichester; 1994. p.89-2.
- Jeffrey GH, Basset J, Mendham J, Denney RC. Vogel: Análise química quantitativa. 5. ed. Rio de Janeiro: LTC; 1992. 712p.
- Jungreis E. Spot test analysis. New York: John Wiley & Sons; 1984. 315p.
- Kandarapu R, Grover V, Chawla HPS, Garg S. Evaluation of the compatibility of ketorolac tromethamine with selected polymers and common tablet excipients by thermal and isothermal stress testing. *S T P Pharma Sci.* 2001;11(6):449-57.
- Korolkovas A. Análise farmacêutica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1988. 208p.
- Lopes CCGO, Salgado HRN. Performance characteristics of bioassay, UV-spectrophotometry and high performance liquid chromatographic determination of gatifloxacin in tablets. *Quím Nova* 2008;31(7):1831-5.
- Marona HRN, Schapoval EES. Performance characteristics of bioassay, nonaqueous titration, UV-spectrophotometry and high performance liquid chromatographic determination of sparfloxacin in tablets. *Braz J Pharm Sci.* 2001;37(2):171-5.
- Martindale. Guia completa de consulta farmacoterapêutica, Barcelona: Pharma Editores; 2006. 2950p.
- Martinez LG, Falcó PC, Cabeza AS. Comparison of several methods used for the determination of cephalosporins. Analysis of cephalexin in pharmaceutical samples. *J Pharm Biomed Anal.* 2002;29:405-23.
- Mastroieni MF. Biossegurança aplicada a laboratórios e serviços de saúde. São Paulo: Atheneu; 2006. 338p.
- Moreno AH, Salgado HRN. Microbiological assay for ceftazidime injection. *J AOAC Int.* 2007;90(5):1379-82.
- Moreno AH, Salgado HRN. Spectrophotometric determination of ceftazidime in pharmaceutical preparations using neocuproin as a complexing agent. *Anal Lett.* 2008a; 41(12):2143-52.
- Moreno AH, Salgado HRN. Development and validation of HPLC method for determination of ceftazidime. *J AOAC Int.* 2008b; 91(4):739-43.
- Myers CM, Blumer JL. Determination of ceftazidime in biological fluids by using high-pressure liquid chromatography. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1983;24(3):343-6.

Ohannesian L, Streeter AJ. Handbook of pharmaceutical analysis. New York: Marcel Dekker; 2002. 585p.

Pereira OA. Substâncias farmacêuticas comerciais. 2.ed. Rio de Janeiro: Abiquif; 2002. 262p.

Rodenas V, Garcia MS, Sanchez-Pedreno C, Albero MI. Spectrophotometric methods for the determination of cephadrine or ceftazidime in human urine using batch and flow-injection procedures. J Pharm Biomed Anal. 1997;15:1687-93.

Silverstein RM, Webster FK, Kiemle DJ. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora; 2007. 490p.

The Merk Index. An encyclopedia of chemical, drugs and biologicals. 14th ed. New York: Merck Co; 2006.

Tozo GCG, Salgado HRN. Microbiological assay for ceftazidime sodium in dosage form. J AOAC Int. 2007;90(2):452-5.

The United States Pharmacopeia. 31th. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 2008. p.434-6, 2572.

Watson DG. Pharmaceutical analysis. London: Churchill Livingstone; 1999. 337p.

