

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

**TELITROMICINA: MÉTODOS DE ANÁLISE,  
ENSAIO DE DISSOLUÇÃO e  
ESTUDO DA ESTABILIDADE**

Tese de Doutorado

**Lauren Crossetti Vaucher**

Porto Alegre, 2007



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

**TELITROMICINA: MÉTODOS DE ANÁLISE,  
ENSAIO DE DISSOLUÇÃO e  
ESTUDO DA ESTABILIDADE**

Tese apresentada por  
**LAUREN CROSSETTI VAUCHER**  
para obtenção do TÍTULO DE DOUTOR  
em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dr. Elfrides Eva Schermann 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 09/11/2007, pela Banca Examinadora:

Profª Dr. Silvia Stanisçuaski Guterres  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profº Dr. Martin Steppe  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profª Dr. Margareth Linde Athayde  
Universidade Federal de Santa Maria

Profª Dr. Miracy Muniz de Albuquerque  
Universidade Federal de Pernambuco

V357t Vaucher, Lauren Crossetti

Telitromicina : métodos de análise, ensaio de dissolução e estudo da estabilidade / Lauren Crossetti Vaucher – Porto Alegre : UFRGS, 2007. - xxii, 180 p.: il., gráf., tab.

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

1. Telitromicina. 2. Validação : Método de análise de fármacos. 3. Dissolução. 4. Estabilidade de medicamentos. 5. Produtos de degradação. I. Schapoval, Elfrides Eva Schermann. II. Título.

CDU: 615.2.07

Bibliotecária responsável:

Margarida Maria Cordeiro Fonseca Ferreira, CRB 10/480

Heloísa do Canto Canabarro, CRB 10/1036

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Ensino e Pesquisa em Controle de Qualidade do Departamento de Produção e Controle de Medicamentos da Faculdade de Farmácia da UFRGS.



**À meu pai José Erasmo Crossetti (*in memorian*),  
de quem eu guardo  
a consciência da integridade e amor  
dedicado à sua família;**

**e**

**Às minhas filhas, Bianca e Betina,  
a quem espero  
poder fazer o mesmo.**



## AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Elfrides Eva Scherman Schapoval, pela orientação, apoio, confiança e amizade;

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da UFRGS pela oportunidade de aprimoramento;

Aos professores da disciplina de Controle de Qualidade professores Martin, Tércio, Célia e Nádia pela receptividade e esclarecimentos prestados;

Ao departamento de Farmácia Industrial da UFSM, pela concessão da licença de afastamento.

À colega Margareth pela amizade, disponibilidade em auxiliar, substituindo-me em minhas atividades didáticas e valiosas discussões em muitas etapas deste trabalho.

Aos colegas Clarice e Ruy pelo incentivo, e sugestões;

Às colegas do Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico - LCQFar : Ana Carolina, Leila, Lorena, Daniela e Roselaine, pela atenção e disponibilidade na utilização dos equipamentos e instalações;

Aos colegas do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Controle de Qualidade (LEPCQ): Andreas, Cássia, Cris, Diogo, Gabriela, Heloísa, Júlia, Juliana Sippel, Juliana Roman, Letícia, Magda, Patrícia e Vanessa pela convivência alegre e amiga. Meu carinho especial à Ana Rita, Clésio e Marcelo pela amizade e colaboração em vários momentos deste trabalho.

À Alini pelo auxílio nas análises, sorriso constante e amizade;

À amiga Gizele pelo apoio e companheirismo durante a realização de nosso curso de Doutorado.

À Bebel, amiga querida de longa data, pela coragem e entusiasmo em enfrentar desafios;

À minha família, presença constante, em especial à minha mãe pela dedicação, amparo e amor.

Aos meus irmãos, cunhados e sobrinhos pelo incentivo e carinho dedicado às minhas filhas.....sempre.

Ao Pedro Inacio, por apoiar minhas decisões, pelo amor e carinho.

À Bianca e Betina por entenderem minhas ausências, amor e tantos momentos felizes compartilhados.

À Fernanda, minha filha do coração, pelo carinho e companheirismo nestes tempos em Porto Alegre;

E a todos àqueles que de alguma maneira colaboraram neste trabalho.

**Muito obrigada!**

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	xi
LISTA DE TABELAS .....	xv
LISTA DE ABREVIATURAS .....	xvii
RESUMO.....	xix
ABSTRACT .....	xxi
1 INTRODUÇÃO .....	3
2 OBJETIVOS .....	7
2.1 OBJETIVO GERAL .....	7
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	11
3.1 ASPECTOS GERAIS .....	11
3.2 DESCRIÇÃO da TELITROMICINA:.....	14
3.3 MECANISMO DE AÇÃO.....	14
3.4 RELAÇÃO ESTRUTURA/ATIVIDADE .....	15
3.5 ATIVIDADE FARMACOLÓGICA.....	17
3.6 PERFIL FARMACOCINÉTICO .....	20
3.7 TOXICIDADE .....	21
3.8 EFEITOS ADVERSOS.....	21
3.9 DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA .....	22
4. ANÁLISE QUALITATIVA .....	27
4.1 INTRODUÇÃO.....	27
4.2 PARTE EXPERIMENTAL .....	28
4.2.1 Determinação do ponto e faixa de fusão .....	28
4.2.1.1 Parte experimental .....	28
4.2.1.2 Resultados e discussão .....	28
4.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho (IV).....	30
4.2.2.1 Parte experimental.....	30
4.2.2.2 Resultados e discussão .....	30
4.2.3 Espectrofotometria na região do ultravioleta (UV).....	31
4.2.3.1 Parte experimental.....	31
4.2.3.2 Resultados e discussão .....	32
4.2.4 Cromatografia em Camada Delgada (CCD).....	34
4.2.4.1 Parte experimental.....	35
4.2.4.2 Resultados e discussão .....	35
4.2.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	37
4.2.5.1 Parte experimental.....	37
4.2.5.2 Resultados e discussão .....	38
4.3 DISCUSSÃO .....	39
4.4 CONCLUSÕES .....	40
5. ANÁLISE QUANTITATIVA .....	43
5.1 INTRODUÇÃO.....	43
5.2 PARTE EXPERIMENTAL .....	46
5.2.1 Espectrofotometria na região do ultravioleta (UV).....	46

5.2.1.1Parte experimental.....	46
5.2.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	56
5.2.2.1Parte Experimental .....	57
5.2.3 Ensaio microbiológico.....	71
5.2.4 Análise comparativa dos métodos.....	81
5.3 DISCUSSÃO.....	83
5.4 CONCLUSÕES.....	84
6. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO ENSAIO DE DISSOLUÇÃO.....	87
6.1 INTRODUÇÃO.....	87
6.2.PARTE EXPERIMENTAL .....	89
6.2.1Determinação da solubilidade da telitromicina em diferentes meios .....	89
6.2.2Condições do ensaio .....	90
6.2.3 Execução do ensaio .....	91
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	93
6.3.1Determinação da solubilidade da telitromicina nos diferentes meios .....	93
6.3.2 Desenvolvimento do teste de dissolução .....	95
6.3.3 Estabilidade da telitromicina nas condições de ensaio.....	97
6.3.4 Influência dos filtros.....	98
6.3.5 Validação do método de dissolução.....	98
6.4 DISCUSSÃO.....	101
6.5 CONCLUSÕES.....	103
7.ESTUDO DA ESTABILIDADE .....	107
7.1 INTRODUÇÃO.....	107
7.2.PARTE EXPERIMENTAL .....	110
7.2.1 Estudo da estabilidade da telitromicina .....	110
7.2.2 Estudo da cinética de degradação da telitromicina .....	116
7.2.3 Isolamento do produto de degradação .....	124
7.2.4 Identificação do produto de degradação .....	127
7.3.DISCUSSÃO.....	142
7.4 CONCLUSÕES.....	144
8. REFERÊNCIAS .....	149
ANEXOS.....	149

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 3.1: Estrutura química da telitromicina (GRAUL e CASTANER,1998; ZHANEL et al., 2002). .....	11
FIGURA 3.2: Classificação química dos macrolídeos .....	13
FIGURA 3.3: Diferenças entre as estruturas dos macrolídeos (1) e cetolídeos (2) (SHAIN e AMSDEN, 2002). .....	17
Figura 4.1. Curva de aquecimento obtida por DSC para a telitromicina SQR. ....	29
FIGURA 4.2. Espectro de absorção na região do IV da telitromicina SQR. ....	30
FIGURA 4.3 Espectros sobrepostos de telitromicina SQR (A), comprimidos (B) e placebo (C) em metanol, na concentração de 40 µg/mL, máxima absorção em comprimento de onda de 265 nm. ....	33
FIGURA 4.4 Espectros sobrepostos de telitromicina SQR (A), comprimidos (B) e placebo (C) em etanol, na concentração de 40 µg/mL, máxima absorção em comprimento de onda de 265 nm. ....	33
FIGURA 4.5 Espectros sobrepostos de telitromicina SQR (A), comprimidos (B) e placebo (C) em HCl 0,1M, na concentração de 40 µg/mL, máxima absorção em comprimento de onda de 258 nm. ....	34
FIGURA 4.6 Perfil cromatográfico das amostras de telitromicina SQR e comprimidos em concentrações de 1mg/mL. Sistema eluente: diclorometano e metanol (70:30). Revelação: luz UV a 254 nm e exposição a vapores de iodo.....	36
FIGURA 4.7 Perfil cromatográfico das amostras de telitromicina SQR (T), eritromicina SQR (E) e claritromicina SQR (C) em concentrações de 1mg/mL. Sistema eluente: diclorometano e metanol (70:30). Revelação: luz UV a 254 nm e exposição a vapores de iodo. ....	36
FIGURA 4.8. Cromatogramas obtidos através da análise por CLAE das soluções de telitromicina SQR (A) e de telitromicina comprimidos (B) ambas à concentração de 25 µg/mL. Condições cromatográficas: fase móvel constituída de MeOH e Tampão Fosfato de Sódio 0,067M (pH ajustado a 4,0 com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 10 %) ,fluxo de 1,0 mL/min, coluna ACE C18 (250 mm x 40 mm), detecção em λ de 265 nm, volume de injeção 20 µl, temperatura de análise 50 °C. ....	39
FIGURA 5.1 - Sobreposição dos espectros de absorção obtidos no UV para as soluções de telitromicina SQR (A), dos comprimidos de telitromicina (B) e placebo de comprimidos (C) em concentrações de 40 µg/mL, preparadas em HCl 0,1 M. ....	51
FIGURA 5.2 - Representação gráfica da curva padrão de telitromicina .....	52
FIGURA 5.3 Cromatogramas obtidos através da análise por CLAE das soluções de telitromicina SQR obtidos na avaliação da influência da temperatura na determinação da resolução(R), temperaturas de análise de 50 °C (A) e 25 °C (B). Condições cromatográficas: fase móvel constituída de MeOH e Tampão Fosfato de Sódio 0,067M (pH ajustado a 4,0 com H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> 10 %) ,fluxo de 1,0 mL/min, coluna Ace C18 (250 mm x 40 mm; ), detecção em λ de 265 nm, volume de injeção 20 µl. ....	63
FIGURA 5.4 Cromatogramas obtidos através da análise por CLAE da solução de telitromicina SQR (A) e solução placebo dos comprimidos(B). Condições cromatográficas: coluna ACE C18 (250mm x 4,0 mm, 5µm); fase móvel	

metanol:tampão fosfato de sódio 0,067M pH 4,0 (55:45);fluxo1 mL/minuto; detecção UV $\lambda = 265$ nm, temperatura de análise 50 °C. ....	64
FIGURA 5.5 Cromatogramas obtidos através da análise por CLAE da solução de telitromicina SQR (1) e solução de comprimidos sob condições de degradação: oxidativa (2), fotoquímica (3), temperatura (4), ácida (5) e alcalina (6). Condições cromatográficas: coluna ACE C18 (250mm x 4,0 mm, 5 $\mu$ m); fase móvel metanol:tampão fosfato de sódio 0,067M pH 4,0 (55:45);fluxo1 mL/minuto; detecção UV $\lambda = 265$ nm, temperatura de análise 50 °C. Os cromatogramas foram deliberadamente deslocados para facilitar a avaliação. ....	65
FIGURA 5.6 - Representação gráfica da curva padrão de telitromicina SQR obtida por CLAE .....	67
FIGURA 5.7 Representação gráfica da curva padrão de telitromicina SQR, obtida através do ensaio microbiológico, método de difusão em ágar – cilindros em placas. ....	76
FIGURA 5.8 Ensaio microbiológico usando <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341 para telitromicina SQR nas concentrações 0,25 (RS1); 0,50 (RS2); 1,0 (RS3) $\mu$ g/mL e telitromicina comprimidos nas concentrações 0,25 (SI); 0,50 (S2), 1,0 (S3) $\mu$ g/mL. ....	79
FIGURA 5.9 Ensaio microbiológico (cilindros em placas) para telitromicina em condições de degradação, usando <i>Micrococcus luteus</i> ATCC 9341como microorganismo: luz UV (254nm) (24h) nas concentrações de 0,25 (L1); 0,50 (L2); 1,0 (L3) $\mu$ g/mL e H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3% (24h) nas concentrações de 0,25 (H1); 0,50 (H2), 1,0 (H3) $\mu$ g/mL.....	80
FIGURA 6.1 Perfil de dissolução de comprimidos de telitromicina (n=6) nos meios de dissolução H <sub>2</sub> O; H <sub>2</sub> O* ;H <sub>2</sub> O + LSS 0,5% ; HCl 0,001M ; HCl 0,01M ; HCl 0, 1M (A) e em tampão acetato pH 4,0 ; tampão fosfato pH 6,8 ; tampão fosfato pH 7,5 (B), todos a 50 rpm *100 rpm.....	96
FIGURA 6.2 Avaliação da especificidade da solução de telitromicina SQR e excipientes do comprimido em tampão fosfato pH 7,5. ....	99
FIGURA 6.3 Curva padrão da telitromicina obtida por UV com comprimento de onda de 263 nm em tampão fosfato pH 7,5. ....	99
FIGURA 7.1 Cromatogramas obtidos através da análise por CLAE da solução de telitromicina comprimidos sob condições de luz UV – 4 horas (A), oxidação – 3 horas (B) e alcalina – 3 horas (C). Condições cromatográficas: coluna ACE C18 (250mm x 4,0 mm, 5 $\mu$ m); fase móvel metanol:tampão fosfato de sódio 0,067M pH 4,0 (55:45); fluxo1 mL/minuto; detecção UV $\lambda = 265$ nm, temperatura de análise 50 °C. ....	113
FIGURA 7.2 Comprimidos e pó dos comprimidos após 10 dias em condições de degradação de temperatura (T) e luz (L). ....	114
FIGURA 7.3 Cromatograma obtido através da análise por CLAE da solução de telitromicina comprimidos submetida à 80 °C por 24 horas. Condições cromatográficas: coluna ACE C18 (250mm x 4,0 mm, 5 $\mu$ m); fase móvel metanol:tampão fosfato de sódio 0,067M pH 4,0 (55:45); fluxo1 mL/minuto; detecção UV $\lambda = 265$ nm, temperatura de análise 50 °C. ....	116
FIGURA 7.4 Gráficos de concentração (A) – reação de ordem zero, log da concentração (B) – reação de primeira ordem e inverso da concentração (C)- reação de segunda ordem de telitromicina residual em função do tempo submetida a fotodegradação.....	120

FIGURA 7.5 Cromatogramas obtidos através da análise por CLAE da solução de telitromicina comprimidos submetida à degradação oxidativa por 8 horas. Telitromicina (A), Produto de degradação (B). Condições cromatográficas: coluna ACE C18 (250mm x 4,0 mm, 5µm); fase móvel metanol:tampão fosfato de sódio 0,067M pH 4,0 (55:45);fluxo1 mL/minuto; detecção UV $\lambda = 265$ nm, temperatura de análise 50 °C. Os cromatogramas foram deliberadamente deslocados para facilitar a avaliação. ....	122
FIGURA 7.6 Gráficos de concentração (A) – reação de ordem zero, log da concentração (B) – reação de primeira ordem e inverso da concentração (C)- reação de segunda ordem de telitromicina residual em função do tempo submetida a degradação oxidativa. ....	123
FIGURA 7.7 Fração degradada por oxidação com H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3% e analisada por CLAE Condições cromatográficas: coluna ACE 5 C18 (250mm x 4,0 mm, 5µm); fase móvel metanol:tampão fosfato de sódio 0,067M pH 4,0 (55:45); fluxo 1 mL/minuto; detecção UV $\lambda = 265$ nm, temperatura de análise 50 °C.....	126
Figura 7.8. Estrutura química numerada da telitromicina. ....	128
FIGURA 7.9 Espectro de RMN de <sup>1</sup> H da telitromicina SQR (500 MHz, metanol-d3) .....	130
FIGURA 7.10 Espectro de RMN de <sup>13</sup> C da telitromicina SQR (125 MHz, metanol-d3). ....	131
Figura 7.11 Espectro DEPT da telitromicina SQR (125 MHz , metanol-d3).....	132
FIGURA 7.12 Espectro de RMN de <sup>1</sup> H do produto de degradação oxidativa da telitromicina (PD10) (500 MHz, metanol-d3).....	133
FIGURA 7.13 Espectro de RMN de <sup>13</sup> C do produto de degradação oxidativa da telitromicina (PD10) (125 MHz , metanol-d3).....	134
FIGURA 7.14 Espectro DEPT do produto de degradação oxidativa da telitromicina (PD10) (125 MHz , metanol-d3).....	135
FIGURA 7.15 Estrutura química proposta para o derivado N-óxido da telitromicina. ....	140
FIGURA 7.16 Interação da telitromicina com a subunidade 50S e 23S do ribossomo bacteriano (FILE, 2005). ....	141



## LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 Ponto e faixa de fusão para a telitromicina SQR determinados pelo método automático e por calorimetria diferencial exploratória.....	29
Equipamento automático .....	29
TABELA 4.2. Interpretação das principais bandas do espectro de IV da telitromicina SQR (NAKANISHI, 1977; SILVERSTEIN; WEBSTER, 2000) .....	31
TABELA 4.3 Condições cromatográficas empregadas na análise de telitromicina por CLAE. ....	38
TABELA 5.2 Adjuvantes farmacêuticos presentes nos comprimidos de telitromicina 400 mg (KETEK <sup>®</sup> ) com suas funções e porcentagens propostas.....	48
TABELA 5.3 Preparo das soluções para realização do teste de recuperação por espectrofotometria no UV .....	50
TABELA 5.4 Análise de variância dos valores obtidos na determinação da telitromicina SQR por método espectrofotométrico UV .....	53
TABELA 5.5 Valores experimentais obtidos na determinação de telitromicina nos comprimidos revestidos por espectrofotometria UV para avaliação da precisão.....	54
TABELA 5.6 Resultados obtidos na avaliação da exatidão do método espectrofotométrico no ultravioleta.....	55
TABELA 5.7 Parâmetros de conformidade do sistema e recomendações .....	56
TABELA 5.8 Preparo das soluções para o teste de recuperação através de CLAE. 60	
TABELA 5.9 Alterações nas condições de análise por CLAE para verificação da robustez do método.....	61
TABELA 5.10 Valores calculados para resolução (R) em diferentes temperaturas de análise .....	63
TABELA 5.11 Áreas absolutas da telitromicina SQR obtidas por CLAE para determinação da curva padrão.....	66
TABELA 5.12 ANOVA das áreas absolutas determinadas para obtenção da curva padrão da telitromicina por CLAE.....	67
TABELA 5.13 Apresentação dos valores experimentais obtidos a partir da determinação de telitromicina em comprimidos revestidos obtidos por CLAE para avaliação da precisão.....	68
TABELA 5.14 Resultados do teste de recuperação por CLAE para determinação da telitromicina em comprimidos .....	69
TABELA 5.15 Avaliação da robustez do método por CLAE através da observação dos parâmetros cromatográficos número de pratos teóricos (N), fator de capacidade (K'), tempo de retenção (tr) e teor do fármaco nos comprimidos.....	70
TABELA 5.16 Preparo das soluções para o teste de recuperação para o ensaio microbiológico.....	74
TABELA 5.17 Valores dos diâmetros dos halos de inibição obtidos na determinação da curva padrão de telitromicina através do método microbiológico. ....	76

TABELA 5.18 Análise da variância dos diâmetros dos halos de inibição para obtenção da Curva padrão da telitromicina, através do ensaio microbiológico .....	77
TABELA 5.19 Valores experimentais para quantificação das amostras dos comprimidos de telitromicina através do ensaio microbiológico .....	78
TABELA 5.20 Valores experimentais obtidos no teste de recuperação da telitromicina pelo método microbiológico .....	79
TABELA 5.21 Resultado da potência da telitromicina comprimidos após exposição aos fatores de degradação através do método microbiológico.....	81
TABELA 5.22 Resultados experimentais obtidos para doseamento de telitromicina em comprimidos, pelos métodos avaliados .....	82
TABELA 5.23 Análise da variância dos resultados obtidos nos doseamentos de telitromicina em comprimidos, pelos métodos propostos .....	82
TABELA 6.1 Porcentagem de telitromicina dissolvida nos diferentes meios, avaliada por CLAE Condições cromatográficas: coluna ACE C18 (250mm x 4,0 mm, 5 $\mu$ m); fase móvel metanol:tampão fosfato de sódio 0,067M pH 4,0 (55:45);fluxo 1 mL/minuto; detecção UV $\lambda$ = 263 nm, temperatura de análise 50 °C. ....	94
TABELA 6.2 Percentuais de fármaco liberado nos diferentes meios .....	97
TABELA 6.3 Estabilidade da telitromicina nas condições do ensaio de dissolução .	97
TABELA 6.4 Resultados referentes à determinação da influência dos filtros na filtração da solução de telitromicina SQR e na solução amostra.....	98
TABELA 6.4 Análise de variância dos valores obtidos para a curva padrão da telitromicina SQR obtida por método espectrofotométrico por UV .....	100
TABELA 6.5 Resultados da precisão (intradia) e precisão intermediária do método de dissolução por UV utilizando diferentes analistas.....	100
TABELA 6.6 Resultados referentes ao estudo de exatidão do método analítico por UV, realizado através do método de adição da SQR. ....	101
TABELA 7.1 Áreas e teores de telitromicina encontrados nos comprimidos e pó de comprimidos após a exposição à luz UV avaliadas por CLAE .....	115
TABELA 7.2 Áreas e teores de telitromicina encontradas nos comprimidos e pós de comprimidos após a exposição ao calor avaliadas por CLAE .....	115
TABELA 7.4 Resultados da concentração residual de telitromicina após degradação oxidativa, utilizando método por CLAE .....	121
TABELA 7.5 Constantes de velocidades de reação (k), e tempo de vida útil ( $t_{90\%}$ ) para telitromicina após fotodegradação e degradação oxidativa, por CLAE .....	124

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise de variância
CIM	Concentração Inibitória Mínima
CCD	Cromatografia em camada delgada
CIVIV	Correlação <i>in vivo</i> – <i>in vitro</i>
DAD	Detector de arranjo de fotodiodos
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DPR	Desvio padrão relativo
DPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
epm	Erro padrão da média
FDA	Food and Drug Administration
gl	Graus de Liberdade
ICH	International Conference on Harmonization
ITR	Infecções do trato respiratório
HSQC	Heteronuclear Single Quantum Correlation
K	Constante de velocidade de reação
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de Quantificação
LSS	Lauril Sulfato de Sódio
MLS <sub>B</sub>	Macrolídeos, Lincosaminas e Estreptogramina B
PD10	Produto de degradação oxidativa
r	Coefficiente de correlação de Pearson
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RNA	Ácido Ribonucléico
Rf	Fator de retenção
SQ	Soma dos Quadrados
SQR	Substância química de referência
t <sub>90%</sub>	Tempo de vida útil
USP	The United States Pharmacopeia



## RESUMO

A telitromicina é o primeiro representante de uma nova família de antibióticos os cetolídeos. Os cetolídeos são derivados semi-sintéticos dos macrolídeos. No Brasil encontra-se disponível na forma de comprimidos revestidos com o nome comercial de Ketek<sup>®</sup>. Este trabalho objetivou o desenvolvimento e validação de métodos analíticos para determinação da telitromicina em comprimidos revestidos, desenvolvimento e validação do ensaio de dissolução e estudo da estabilidade do fármaco. A determinação da faixa de fusão e a espectrofotometria no infravermelho permitiram identificar a telitromicina substância química de referência. Os métodos por cromatografia em camada delgada (CCD), espectrofotometria no ultravioleta (UV), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), foram utilizados para análise qualitativa do fármaco na forma farmacêutica. A determinação quantitativa foi realizada através da validação dos métodos por UV, CLAE e ensaio microbiológico. Os métodos propostos não apresentaram diferença estatística para um nível de significância de 1%. O teste de dissolução foi desenvolvido e validado na condição mais discriminatória obtida. Após seleção, a condição escolhida foi tampão fosfato de sódio pH 7,5, como meio de dissolução e pás a 50 rpm. Estudo preliminar da estabilidade de telitromicina frente à degradação ácida, alcalina, oxidativa, térmica e fotolítica mostrou a oxidação e a luz como fatores importantes de degradação. A cinética de fotodegradação e oxidativa demonstrou cinética de primeira ordem de reação. A estabilidade acelerada da telitromicina foi realizada pela oxidação em peróxido de hidrogênio havendo formação de um produto majoritário denominado PD10 o qual foi isolado por CLAE em coluna semi-preparativa. O produto foi identificado por ressonância magnética nuclear como derivado *N*-óxido da telitromicina.

**Palavras-chave:** telitromicina, validação de métodos analíticos, teste de dissolução, estudo de estabilidade, produto de degradação.



## ABSTRACT

### **Telithromycin: Analytical methods, dissolution test and stability study**

Telithromycin is the first member of a new antibiotic class named ketolides. The ketolides are derived from macrolides class. In Brazil it is available in coated tablets with the commercial name of ketek<sup>®</sup>. The aim of this study was the development and validation of analytical methods to the determination of telithromycin in coated tablets, the development and validation of dissolution test and the stability study of the drug. The melting range determination and infrared spectrophotometric allowed telithromycin standard reference identification. Methods of thin-layer chromatography (TLC), ultraviolet spectrophotometry (UV), high performance liquid chromatography (HPLC) were employed to the qualitative analysis of the drug in pharmaceutical formulations. The quantitative determination was performed through the validation of UV, HPLC and microbiological assay, evaluating the guidances validation parameters. The proposed methods were not statically different to a 1% significance level. The dissolution test was developed and validated using the most discriminatory condition obtained, sodium phosphate buffer pH 7.5 as dissolution medium and paddle at 50 rpm. Preliminary stability study of telithromycin through acid, alkaline, oxidative, thermal and photolytic degradation shows sensibility to oxidation and light. The kinetics of photo degradation and oxidative degradation of telithromycin showed first order kinetics of reactions. The accelerated stability of telithromycin was evaluated through the oxidation by hydrogen peroxide giving one majority degradation product, assigned PD10. The separation was carried out by HPLC. The product was isolated by semi preparative column chromatographic. The majority degradation product of telithromycin was identified by nuclear magnetic resonance as an N-oxide derivative.

**Keywords:** telitromycin, validation of analytical methods, dissolution test, stability studies, degradation products.



---

## 1 - INTRODUÇÃO



## 1 INTRODUÇÃO

A qualidade tornou-se um tema de extrema relevância em todos os ramos de atividade. A área da saúde tem acompanhado esta evolução sendo o controle de qualidade de medicamentos um aspecto sistematicamente considerado.

Na área farmacêutica, tanto no processo de desenvolvimento de novos fármacos e formas farmacêuticas (estudo de formulação, estabilidade, testes farmacológicos e toxicológicos) como no processo de fabricação destes medicamentos, o controle de qualidade é indispensável para garantir ao consumidor a alta qualidade dos produtos que recebe (AVENDAÑO, 1993). Conseqüentemente, a validação de métodos analíticos tem estado em foco e é uma exigência de agências reguladoras da área farmacêutica.

O mundo científico tem colaborado de forma decisiva desenvolvendo e padronizando métodos adequados aos novos fármacos e, aos diversos medicamentos presentes no mercado farmacêutico que não apresentam metodologia analítica específica descrita, como é o caso da Telitromicina, objeto de estudo deste trabalho.

A telitromicina é o primeiro membro de uma nova família da classe dos macrolídeos, os Cetolídeos. Foi especificamente desenvolvida para o tratamento de infecções do trato respiratório adquiridas na comunidade (ITR), possui amplo espectro, com atividade contra patógenos respiratórios comuns, incluindo infecções causadas por *S. pneumoniae* resistentes a vários fármacos, em pacientes com mais de 18 anos (BALFOUR e FIGGITT, 2001).

As pneumonias adquiridas na comunidade estão entre as principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo e aliado a este fato é crescente o número de resistência aos antimicrobianos usuais. A telitromicina tem mostrado atividade contra estes patógenos (FOGARTY *et al.*, 2005).

Por tratar-se de um produto novo e de recente inclusão no mercado, não possui monografia em nenhum Código Oficial, não havendo registros para determinações qualitativas e quantitativas deste fármaco na matéria-prima e em sua forma farmacêutica. Verificou-se, também, não haver estudos publicados sobre sua estabilidade e ensaios de dissolução da forma farmacêutica.

Baseando-se nestes aspectos, planejou-se o desenvolvimento e a validação de metodologia para determinação quantitativa de telitromicina em comprimidos, o desenvolvimento e a validação do teste de dissolução de seus comprimidos, e o estudo da estabilidade da substância ativa.

---

### **3 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**



### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ASPECTOS GERAIS

A telitromicina é o primeiro representante de uma nova família de antibióticos os CETOLÍDEOS. Os cetolídeos são derivados semi-sintéticos dos macrolídeos que apresentam um anel de 14 membros (NAMOUR et al., 2001; GRAUL e CASTAÑER, 1998). A característica que define a família dos cetolídeos é a substituição da L-cladinose por um grupo ceto na posição 3 do anel da macrolactona; a substituição deste açúcar não apenas resulta na manutenção da atividade antibacteriana, como confere atividade contra bactérias resistentes aos macrolídeos e reduz a capacidade de induzir resistência (NILIUS e ZHENKUN, 2002). Além disso, a telitromicina possui um carbamato cíclico ligado à posição C11-12 (GRAUL e CASTAÑER, 1998). A Figura 3.1 representa a estrutura da telitromicina.

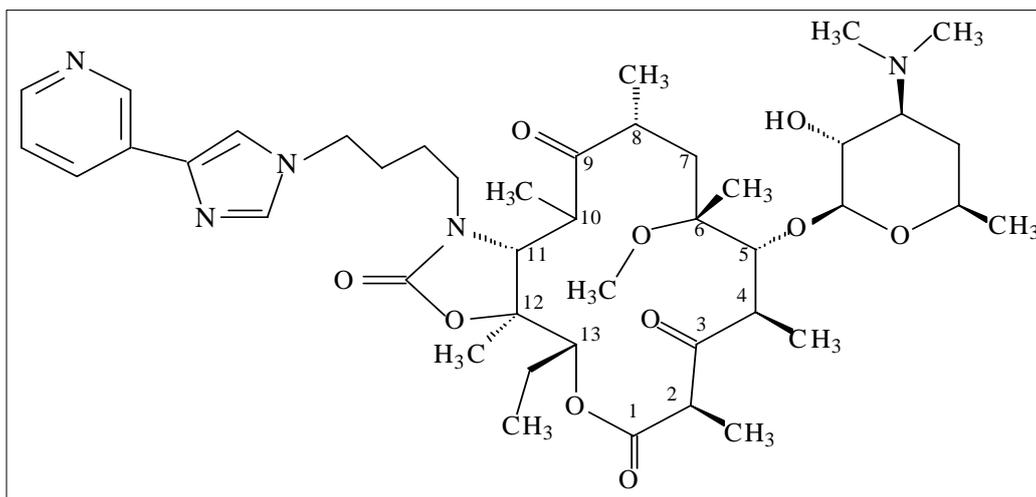


FIGURA 3.1: Estrutura química da telitromicina (GRAUL e CASTANER,1998; ZHANEL et al., 2002).

O grupo dos antibióticos macrolídeos é obtido a partir da espécie *Streptomyces*, sendo descoberto em 1950. A eritromicina, macrolídeo mais relevante foi descoberto em 1952; é uma mistura da eritromicina A, B, C, D, E e F, sendo a estrutura A seu maior componente (KANFER et al.,1998). Possui uma lactona de 14 membros ligados a dois açúcares, a desosamina e a L-cladinose. Sua atividade é predominantemente contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus*, *Streptococcus*) e contra cocos Gram-negativos (*Haemophilus*, *Gonococcus*) incluindo também outros patógenos como *Legionella*, *Mycoplasma* e *Chlamydia*. Seu

espectro de atividade combinado à administração oral e à existência de preparações pediátricas torna seu emprego como uma segunda escolha frente aos  $\beta$ -lactâmicos em infecções do trato respiratório. Mesmo sendo oralmente absorvida, a eritromicina é pouco estável em meio ácido e sua tolerância gástrica é pequena; algumas melhorias foram feitas como o uso de ésteres e sais, porém a biodisponibilidade não é ideal (KANFER *et al.*, 1998; HUNTER, 1998).

É geralmente tida como um antibiótico seguro e efetivo em doenças infecciosas, o que tem levado grupos de pesquisadores a contínuas investigações para novas modificações da eritromicina com objetivo de aumentar suas propriedades terapêuticas (LEVI, 1991). A partir de 1950, existem muitos macrolídeos isolados naturalmente, incluindo aqueles com lactona de 16 membros como espiramicina, carbamicina e leucomicina e outros com 14 membros como a oleandomicina. Mais tarde surgiram a josamicina (1967) e a midecamicina (1973), ambas com lactonas de 16 membros. Nenhum destes compostos superou a eritromicina em termos de atividade e absorção. Na década de 90 foram desenvolvidos derivados de 14 membros como a claritromicina e a roxitromicina, que apresentam espectro estendido em relação à eritromicina. Esta melhoria da atividade ainda não foi suficiente para contornar o problema da resistência (HUNTER, 1998). Desta forma, o crescimento da resistência à eritromicina e seus primeiros derivados, proporcionou a reavaliação de novos compostos (HUNTER, 1998).

Segundo Nilius e Zhenkun (2002), os objetivos para se reprojeter os macrolídeos foram:

- Aumentar a atividade antibacteriana;
- Superar a resistência aos macrolídeos;
- Evitar a resistência à classe macrolídeo-lincosamina-estreptogramina B (MLS<sub>B</sub>).

Foram também propostos os azalídeos, cuja lactona é constituída de 15 membros sendo um deles o nitrogênio; seu principal representante é a azitromicina com espectro de ação mais amplo frente aos microorganismos Gram-positivos. A expansão da lactona macrocíclica e a presença do átomo de nitrogênio como parte

do anel são responsáveis pelas melhores características farmacológicas e microbiológicas da azitromicina (KOROLKOVAS e FRANÇA, 2001).

Ackermann e Rodloff (2003) relataram que outros cetolídeos estão sendo desenvolvidos e investigados por diferentes grupos de pesquisadores. Estes derivados são todos 3 ceto – 6 metoxi, 11,12 carbamato macro lactona. Suas estruturas químicas diferem na substituição do anel aromático e na presença ou ausência de flúor, porém até esta data nenhum outro cetolídeo foi lançado no mercado farmacêutico.

A cetromicina (ABT 773), derivado cetolídeo encontra-se em fase III de estudos clínicos (HENNINGER *et al.*, 2004), em estudos realizados com oito espécies de *S. pneumoniae* resistentes aos macrolídeos, demonstrou atividade superior a claritromicina e azitromicina (KIM *et al.*, 2004). Um derivado C2-flúor da cetromicina foi sintetizado e demonstrou atividade contra *S. pneumoniae* e *S. pyogenes* resistentes aos macrolídeos (XIAODONG *et al.*, 2005).

Os antibióticos macrolídeos utilizados clinicamente podem ser classificados baseando-se no número de átomos do anel lactona e estão esquematizados na Figura 3.2 (GRAUL e CASTAÑER, 1998; KANFER *et al.*, 1998).

Os novos macrolídeos apresentam menores efeitos colaterais e gastrintestinais, melhor perfil farmacocinético que os primeiros (GRAUL e CASTAÑER, 1998).

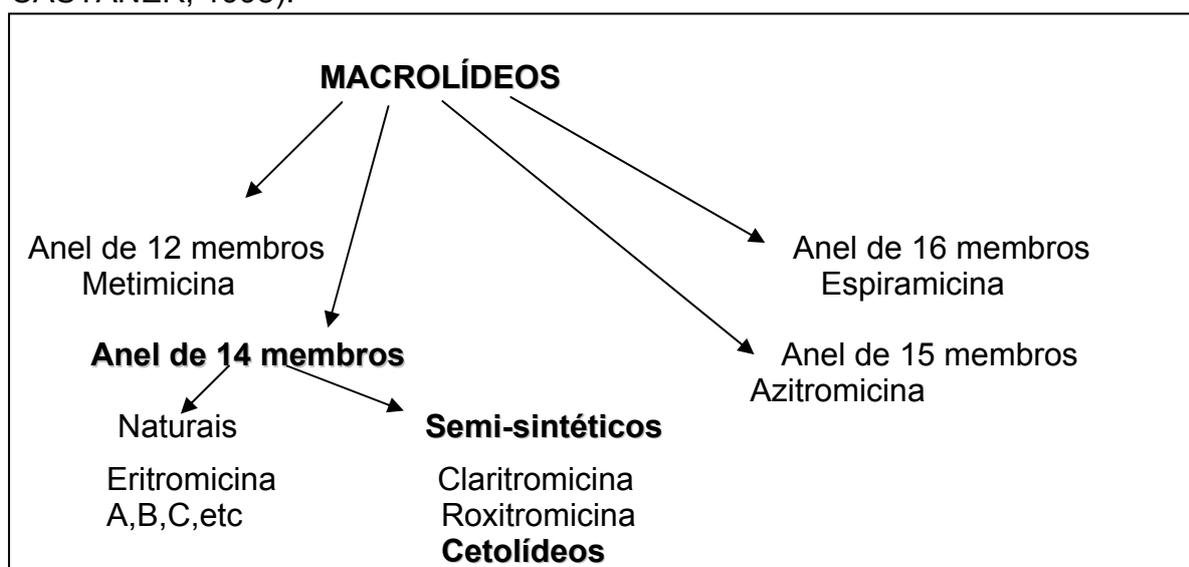


FIGURA 3.2: Classificação química dos macrolídeos

### 3.2 DESCRIÇÃO da TELITROMICINA:

- **Nome químico:**

3-des[(2,6–dideoxi-3-C-metil-3-O-metil- $\alpha$ -L-ribo-hexopiranosil)oxi]11,12-dideoxi-6-O-metil-3-oxo-12,11[oxicarbonil[[4-[-(3-piridinil)-1H-imidazol-1-il]butil]imino]]-eritromicina

- **Sigla :** HMR 3647 ;HMR 3847; RU 66647
- **Fórmula molecular :**  $C_{43}H_{65}N_5O_{10}$
- **Massa molecular :** 812,01
- **Faixa de fusão :** 187 °C – 188 °C
- **Solubilidade :** Solúvel em tampões ácidos e na maioria dos solventes orgânicos, como etanol, metanol e clorofórmio;  
Pouco solúvel em água (0,6 mg/mL);  
Pouco solúvel em tampões alcalinos.

(GRAUL e CASTAÑER,1998; AVENTIS PHARMA,2001; THE MERCK INDEX,2001; SHAIN e AMSDEN, 2002).

### 3.3 MECANISMO DE AÇÃO

A telitromicina, a exemplo de várias classes de antibióticos: macrolídeos, lincosamidas, estreptograminas, anfenicóis, aminociclitolis, oxazolidinonas e tetraciclinas têm sua atividade antibacteriana por meio da ligação aos ribossomos bacterianos, inibindo, assim, a síntese de proteínas. Os ribossomos são estruturas nucleoproteicas citoplasmáticas, que constituem as unidades básicas do mecanismo de síntese de proteínas em modelos de RNAmensageiro. O ribossomo bacteriano possui duas subunidades envolvidas na duplicação do RNA a subunidade 50S e a subunidade 30S, ao passo que nos mamíferos, as subunidades são de 60S e 40S. A subunidade 30S, na qual se inicia a tradução da mensagem do RNA e a subunidade

50S estão envolvidas na ligação que leva o aminoácido ao RNAt e forma uma cadeia de peptídeo. Os aminociclitolis e tetraciclinas atuam na inibição da função 30S, enquanto o cloranfenicol, lincosaminas estreptograminas e macrolídeos inibem a atividade da subunidade 50S. A nível molecular a telitromicina e os demais macrolídeos atuam em dois pontos da subunidade 23S do RNAribossômico; estes pontos são conhecidos como domínios II e V. Neste local existe uma diferença importante entre a telitromicina e os demais macrolídeos; esta diferença permite a telitromicina manter sua atividade contra cepas resistentes MLS<sub>B</sub> quando os macrolídeos são ineficazes. Ambos interagem no domínio V de modo similar, porém há uma diferença importante no domínio II, especificamente, a telitromicina se liga dez vezes mais fortemente, esta ligação se deve à cadeia lateral aromática estendida da posição C11-C12. A telitromicina retém mais sua capacidade de ligação do que os macrolídeos disponíveis (JONES e BIEDENBACH,1997; GRAUL e CASTAÑER, 1998; BALFOUR e FIGGITT, 2001; NILIUS e ZHENKUN, 2002 ).

### 3.4 RELAÇÃO ESTRUTURA/ATIVIDADE

Os cetolídeos eram conhecidos há alguns anos, porém sua atividade foi evidenciada recentemente. Em 1977, foram apresentados a picromicina e seu análogo nabomicina. O *S. aureus* demonstrou sensibilidade a estes compostos, enquanto que frente à eritromicina ofereceu resistência. Foi demonstrado que a produção da resistência estaria associada à C3 L-cladinose. Embora estes compostos apresentem a vantagem de não produzir resistência, sua atividade antibacteriana é fraca. Em 1995, foi preparado a partir da claritromicina um cetolídeo semi-sintético com potente atividade contra organismos sensíveis à eritromicina e apresentando, também, boa atividade contra estreptococos resistentes aos macrolídeos. Devido à atual prevalência de cepas de *S. pneumoniae* resistentes a vários fármacos, incluindo os macrolídeos, surgiu um especial interesse nesta nova classe estrutural da família dos macrolídeos e várias séries de compostos têm sido desenvolvidas a partir do esqueleto cetolídeo (JOHNSON, 2001; NILIUS e ZHENKUN, 2002).

As principais relações entre estrutura e atividade estão descritas a seguir (GRAUL e CASTAÑER, 1998; HUNTER,1998, NILIUS e ZHENKUN 2002, ACKERMAN e RODLOFF, 2003):

- ⇒ O açúcar L-cladinose na posição C3 do anel da macrolactona dos macrolídeos e dos azalídeos era considerado um pré-requisito essencial para a atividade antibacteriana, entretanto, está também associado à indução de resistência. Nos cetolídeos a substituição desse açúcar por um grupo ceto não apenas resulta na manutenção da atividade antibacteriana, como confere atividade contra bactérias resistentes aos macrolídeos e reduz a capacidade de induzir resistência;
- ⇒ O bloqueio da posição C6 na telitromicina por grupo metoxila impede a hemicetalização, resultando em uma molécula com boa estabilidade em meio ácido permanecendo ativa em pH muito baixo por mais de 6 horas. A estabilidade aumentada dos cetolídeos em meio ácido propicia potencial para maior estabilidade no líquido gástrico;
- ⇒ A introdução de uma cadeia lateral de carbamato na posição C11-12 é responsável pelas propriedades físico-químicas aperfeiçoadas e pela afinidade direta, promovendo maior atividade antibacteriana. Especificamente a telitromicina possui ligação no domínio II da subunidade 23S do ribossomo bacteriano dez vezes mais forte que os demais compostos. Isso se deve a essa cadeia lateral aromática estendida. Desse modo a telitromicina retém mais sua capacidade de ligação do que os macrolídeos disponíveis;
- ⇒ O grupamento alquila na posição C6 e o anel carbamato em C11-12 impedem a ciclização C6-9 ou C9-12 formando um hemiacetal, produto facilmente formado com a eritromicina em meio ácido;
- ⇒ A introdução de flúor na posição C2 pode favorecer o aumento da atividade antibacteriana e melhorar seu perfil farmacocinético;
- ⇒ A substituição de grupo etila da posição C13 por grupos pequenos por meio de engenharia genética conserva a potência antibacteriana.

Essas duas últimas modificações originam as subclasses dos 2-fluorcetolídeos e cetolídeos C13 modificados, respectivamente (NILIUS e ZHENKUN, 2002; SHAIN e AMSDEN, 2002; ZHANEL e HOBAN, 2002).

Nos cetolídeos as modificações das posições C3, C6, C11-12 compensam a perda da cladinose, relatada, por alguns autores, como importante para a atividade antimicrobiana (SHAIN e AMSDEN, 2002).

As estruturas gerais dos macrolídeos e cetolídeos estão apresentadas na Figura 3.3.

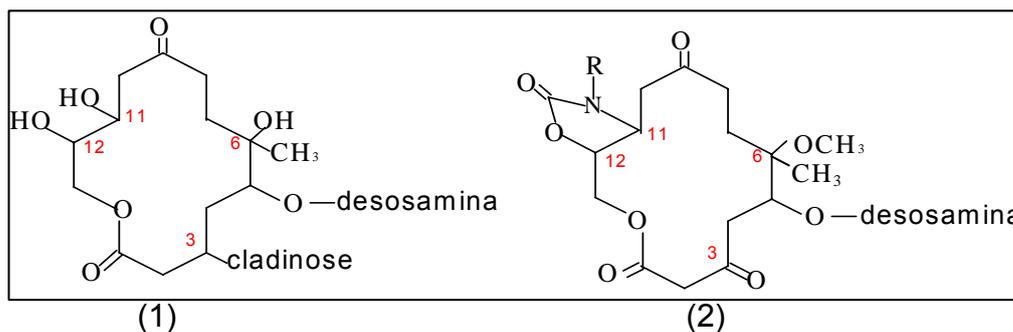


FIGURA 3.3: Diferenças entre as estruturas dos macrolídeos (1) e cetolídeos (2) (SHAIN e AMSDEN, 2002).

### 3.5 ATIVIDADE FARMACOLÓGICA

Estudos clínicos demonstram que a telitromicina apresenta, por via oral, atividade comparável aos antimicrobianos: claritromicina, agentes  $\beta$ -lactâmicos e fluorquinolonas, no tratamento de uma variedade de infecções respiratórias em adultos. Além disso, a telitromicina apresenta perfis de segurança e tolerabilidade favoráveis e baixo potencial para induzir resistência (FILE, 2005).

Trabalhos realizados até o momento demonstram a ação da telitromicina frente a diferentes microorganismos, comparando sua atividade com outros antimicrobianos.

Malathum e colaboradores (1999) testaram a atividade *in vitro* da telitromicina e de um análogo (HMR 3004) frente a 280 cepas de bactérias Gram-positivas com diferentes perfis de sensibilidade. Ambos demonstraram ser potentes contra todas as cepas testadas. Alguns enterococos resistentes à eritromicina foram inibidos com baixa concentração dos cetolídeos.

A telitromicina exerce atividade contra patógenos Gram-positivos e Gram-negativos, sendo particularmente ativa contra as espécies responsáveis pelas infecções do trato respiratório, incluindo pneumonia adquirida na comunidade, exacerbação bacteriana de bronquite crônica, sinusite maxilar aguda e faringite / amigdalite (GRAUL e CASTAÑER, 1998; BRIYSKIER,2000; AVENTIS PHARMA,2001; CALBO e GARAU,2004).

Johnson e colaboradores (2001) demonstraram a ação da telitromicina e mais oito antibióticos frente a cento e oitenta diferentes cepas de *S. pneumoniae* resistentes à eritromicina obtidas de secreções do trato respiratório de crianças. O cetolídeo demonstrou atividade superior a todos fármacos testados com CIM  $\leq 1$  mg/L . A menor concentração em que uma substância antimicrobiana é capaz de inibir o crescimento da bactéria é denominada Concentração Inibitória Mínima (CIM) (TRABULSI,1986) sendo os valores de CIM<sub>50</sub> e CIM<sub>90</sub>, as concentrações mínimas necessárias para inibir o crescimento de 50 e 90% das cepas, respectivamente (BALFOUR e FIGGITT, 2001).

Telitromicina demonstrou atividade *in vivo* superior à azitromicina, à claritromicina e ao levofloxacino em infecções respiratórias em ratos causadas por *S. pneumoniae* e *Haemophilus influenza* resistentes à eritromicina e benzilpenicilina (OKAMOTO *et al.*, 2001).

Na Bélgica cerca de 17% dos pneumococos são resistentes à penicilina e mais de 38% aos macrolídeos. Testou-se a atividade da telitromicina e outros cinco antibióticos frente a pneumococos obtidos de 637 pacientes. A telitromicina apresentou 98,45% de eficácia, enquanto que a sensibilidade dos pneumococos demonstrada aos demais fármacos foi de: penicilina 81,8%, tetraciclina 67,0%, levofloxacino 98,9%, eritromicina 61,5% e clindamicina 66,6% (VERHAEGEN e VERBIST, 2001).

Foram determinadas concentrações de telitromicina em fluidos biológicos de 20 pacientes voluntários com infecção pulmonar causada por diferentes microorganismos através do método microbiológico, demonstrando ter boa penetração nos tecidos pulmonares e resultados superiores à claritromicina e eritromicina ( KHAIR *et al.*, 2001).

A atividade *in vitro* da telitromicina foi comparada com outros antibióticos frente a diferentes patógenos colonizadores do aparelho respiratório com determinado padrão de resistência predeterminado em países do Cone Sul. Os resultados mostraram que das 327 cepas, obtidas de infecções respiratórias adquiridas em diferentes comunidades do Cone Sul, com diferentes tipos de resistência, todas foram sensíveis à telitromicina. Os autores concluíram que com estes resultados a telitromicina poderia substituir os macrolídeos e azalídeos nas infecções respiratórias adquiridas na comunidade (ITRs) (CASELLAS *et al.*, 2002).

As CIM<sub>50</sub> e CIM<sub>90</sub> da telitromicina, azitromicina e claritromicina foram determinados frente a 142 cepas de *H.influenzae*. Os resultados obtidos comprovaram a superioridade da telitromicina sobre a eritromicina e claritromicina sendo similar à azitromicina (DABERNAT *et al.*, 2002).

File (2005) em sua revisão sobre a telitromicina, informa que na Alemanha, após três anos de uso, as pesquisas para determinação da concentração inibitória mínima (CIM) mostraram-se inalteradas, demonstrando não haver desenvolvimento de resistência ao fármaco. Também é demonstrada uma avaliação do uso da telitromicina comparada à vários antimicrobianos (claritromicina, trovafloxacino, amoxicilina e cefuroxima), no tratamento de infecções do trato respiratório. A telitromicina apresentou o maior porcentual de cura em todas as comparações realizadas.

Um grupo de pacientes com idade superior à 13 anos, com pneumonia adquirida na comunidade por *S. pneumoniae*, confirmada por cultura de sangue apresentou cura clínica e bacterológica após tratamento de 5 a 10 dias com dose diária de 800 mg de telitromicina (CARBON *et al.*, 2006).

Inflamação em ratas foi obtida pela injeção intraperitoneal de lipopolissacarídeos (LPS) provenientes de *Escherichia coli*. Nos animais que receberam doses de 50 mg/Kg do indutor da inflamação houve morte total, porém a telitromicina apresentou ação antiinflamatória em 50% dos casos. Quando a dose de LPS foi reduzida, 40% dos animais sobreviveram e a telitromicina apresentou 87,5% de ação antiinflamatória. Os pesquisadores concluíram que a atividade antibacteriana da telitromicina está associada à efeitos antiinflamatórios ( LEIVA *et al.*, 2007).

As CIMs de 14 antimicrobianos foram determinadas em 296 isolados de *S. pneumoniae*, obtidos de pacientes de um hospital americano durante três anos. A telitromicina foi altamente ativa e nenhuma das cepas testadas foi resistente ao fármaco, demonstrou atividade bactericida em concentrações normais para sete isolados com resistência intermediária à penicilina, resistentes ao levofloxacino e aos macrolídeos (KAYS *et al.*, 2007).

Com base nos dados disponíveis, a telitromicina pode ser considerada um aliado potente aos antibacterianos atualmente disponíveis para o tratamento das infecções respiratórias.

### 3.6 PERFIL FARMACOCINÉTICO

O principal objetivo do tratamento antibacteriano é alcançar concentrações adequadas do fármaco no local alvo durante um período de tempo ideal para assegurar a erradicação bacteriológica ao mesmo tempo em que minimiza o risco de seleção de resistência. O perfil farmacocinético constitui uma parte essencial do desenvolvimento de uma medicação, importante na determinação da dose posológica ideal. Relacionando o perfil farmacocinético à sua conhecida atividade *in vitro* contra os principais patógenos, foi usado um modelo de farmacocinética/farmacodinâmica (PK/PD) para prognosticar a eficácia bacteriológica e os resultados clínicos dessa forma, definindo a dose de 800 mg de telitromicina, em dose única diária como a ideal (DRUSANO, 2001; AVENTIS PHARMA, 2001).

A telitromicina é rapidamente absorvida após administração oral com um tempo de 1-3 horas pós-dose até a ocorrência da concentração sérica máxima ( $T_{max}$ ) (YASSIN e DEVER, 2001).

A concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ) é atingida após 3 a 3,5 horas, seguida da administração oral de 800 mg de telitromicina com valores de 1,40 e 1,70 mg/L respectivamente; na administração intravenosa a concentração plasmática máxima de telitromicina foi detectada após 2,5 horas do início da infusão. Este estudo foi realizado com 12 voluntários jovens (18-40 anos) e 12 idosos (65-85

anos). A telitromicina após 60 horas da administração pôde ser quantificada em 2 dos 12 voluntários jovens e em 7 dos 12 idosos (PERRET *et al.*, 2002).

Zannel e colaboradores (2002), em revisão sobre os cetolídeos, descrevem entre as principais propriedades farmacocinéticas da telitromicina para 800 mg, biodisponibilidade de 60%, concentração máxima de 1,90 µg/mL e tempo para atingir a concentração máxima ( $T_{max}$ ) de 1 hora. Estes mesmos dados são apresentados por File (2005) em sua ampla revisão sobre a telitromicina.

### 3.7 TOXICIDADE

A telitromicina foi administrada em ratos saudáveis em doses superiores a 300 mg/kg/dia durante 10 dias. Os animais tratados não mostraram perda significativa de peso e nenhuma outra indicação de toxicidade (GRAUL e CASTAÑER, 1998).

### 3.8 EFEITOS ADVERSOS

Uma vez que a telitromicina é estruturalmente semelhante aos macrolídeos, o enfoque é dado à tolerabilidade gastrointestinal (diarréia, náusea e vômito). Em estudos realizados durante o desenvolvimento clínico a ocorrência de diarréia foi transitória e reversível. A prevalência de diarréia mostrou-se semelhante aos antibacterianos usados como agentes comparativos (AVENTIS PHARMA, 2001).

Alguns casos de miastenia grave foram relatados incluindo quadro de debilidade muscular e insuficiência respiratória, um caso de morte foi notificado, sendo seu mecanismo desconhecido (CALBO e GARAU; 2005).

Recentemente, foram divulgados casos de hepatotoxicidade, relacionados ao uso de telitromicina (ROSS, 2007). Estas observações levaram o FDA à orientação de modificação na bula do medicamento KETEK® onde deve constar o alerta sobre a ocorrência de miastenia e hepatotoxicidade e também a retirada das indicações de uso para sinusite bacteriana e exacerbação aguda de bronquite crônica (FDA 2007).

### 3.9 DETERMINAÇÃO QUANTITATIVA

A literatura científica a respeito da telitromicina é escassa no que se refere à sua quantificação.

A maioria dos artigos consultados relata a atividade antibacteriana *in vitro* avaliada mediante a determinação de suas concentrações inibitórias mínimas (CIM), através do método da diluição em ágar ou em meio líquido (MALATHUM *et al.*, 1999; JOHNSON *et al.*, 2001; VERHAEGEN & VERBIST; 2001).

Foram encontradas determinações da atividade antimicrobiana da telitromicina frente a microorganismos obtidos de fluidos biológicos, bem como sua comparação com outros antibióticos usualmente empregados para estes microorganismos, todos utilizando determinações antimicrobianas *in vitro* (BEMER-MELCHIOR *et al.*, 2000; CASELLAS *et al.*, 2001; KHAIR *et al.*, 2001; NAMOUR *et al.*, 2001; OKAMOTO *et al.*, 2001; VERHAEGEN e VERBIST, 2001).

Lingerfelt e Champney (1999) relataram a separação da telitromicina matéria-prima junto com outros vinte macrolídeos e cetolídeos, a partir deste *pool* foi feita a separação destes compostos por CLAE utilizando como fase móvel acetonitrila:metanol:acetato de amônia (0,1M; pH 7,0) (65:20:15). Após a determinação de seus tempos de retenção os compostos foram individualmente separados sendo realizada a avaliação da potência microbiológica de cada um dos fármacos as quais foram comparadas entre si.

Perret e colaboradores, em 2002, determinaram a biodisponibilidade da telitromicina em voluntários sadios, jovens e idosos em plasma e urina. A determinação foi feita empregando cromatografia líquida de alta eficiência/espectrometria de massa, usando coluna Inertisil® ODS (2,1 100mm; 3,5 µm) e acetato de amônia 0,05M:metanol:acetonitrila (2,2:1,2:2) como fase móvel.

A concentração de telitromicina de plasma e fluidos do espaço intersticial de tecidos foi monitorada, através da CLAE utilizando coluna RP 18 (250 x 4,0mm, 5µm), fase móvel composta por acetato de amônia (0,03 M; pH 5,2) : acetonitrila (59;41) , fluxo 0,8 mL/min com detecção fluorescente (excitação 263 nm e emissão 460 nm) (TRAUNMULLER *et al.*, 2005).

Na literatura não há método descrito para a determinação de telitromicina em preparações farmacêuticas, entretanto existem publicações utilizando CLAE para quantificar compostos macrolídeos em preparações farmacêuticas, fluidos biológicos e junto aos respectivos metabólitos.

Kanfer e colaboradores, em 1998, fizeram minuciosa revisão a respeito da separação e quantificação da eritromicina e compostos relacionados empregando cromatografia em camada delgada, cromatografia em papel, cromatografia gasosa, CLAE e eletroforese capilar. Estas técnicas podem ser aplicadas aos meios de fermentação, avaliação de matérias primas, análises de produtos farmacêuticos e material biológico como plasma, sangue, urina e tecidos. Os autores ressaltam a escassez de publicações sobre quantificação dos macrolídeos mais recentes, utilizando CLAE.

A determinação da claritromicina foi descrita por Salem (1996) utilizando 65% de metanol e 35% de tampão fosfato de sódio 0,05 M pH 4,0. Esta mesma fase móvel, na proporção 70:30 com coluna C18 (150 x 4,6mm, 3µm) em temperatura de 60 °C e detecção espectrofotométrica a 220 nm; foi utilizada para a determinação de roxitromicina em plasma humano (MACEK e KLÍMA,1999).

Abuga e colaboradores (2001) apresentaram um método indicativo de estabilidade para a claritromicina. Os autores fazem uma breve revisão sobre os métodos de quantificação deste antibiótico até esta data, e relatam a sua pesquisa, onde conseguiram a separação da claritromicina de seus produtos de degradação. O método emprega como fase estacionária coluna RP18 (250x4,6mm,5µm),temperatura de 56 °C e fase móvel constituída de acetonitrila e tampão fosfato de sódio 0,2M, pH 6,8 e água (40:3,5:56,5).

A azitromicina foi quantificada junto a impurezas utilizando como fase móvel tampão fosfato de sódio 10 mM pH 6,0 e mistura de metanol:acetonitrila (1:1) (MIGUEL e BARBAS,2003).

A monografia da claritromicina (USP30,2007) descreve sua quantificação por CLAE utilizando, como fase móvel metanol : tampão fosfato de sódio 0,067 M pH 4,0 (65:35).

Para a determinação quantitativa da telitromicina sob a forma de matéria-prima ou em sua forma farmacêutica não foram encontradas publicações.