

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Avaliação da farmacocinética do mazindol em plasma, fluido oral e
urina e validação de metodologias analíticas

MARCELLA HERBSTRITH DE OLIVEIRA

Porto Alegre, 2014

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

Avaliação da farmacocinética do mazindol em plasma, fluido oral e urina e validação de metodologias analíticas

Tese apresentada por **Marcella Herbstrith de Oliveira** para obtenção do GRAU DOUTOR em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Pedro Eduardo Fröhlich

Porto Alegre, 2014

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 07.05.2014, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dra. Aline Rigon Zimmer

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. Mirna Bainy Leal

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Profa. Dra. Flávia Valladão Thiesen

Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)

CIP - Catalogação na Publicação

Herbstrith de Oliveira, Marcella
Avaliação da farmacocinética do mazindol em
plasma, fluido oral e urina e validação de
metodologias analíticas / Marcella Herbstrith de
Oliveira. -- 2014.
124 f.

Orientador: Pedro Eduardo Fröhlich.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-
RS, 2014.

1. Álcool e drogas no trânsito. 2.
Farmacocinética. 3. Validação de metodologias
analíticas. I. Eduardo Fröhlich, Pedro, orient. II.
Titulo.

Agradecimentos a CAPES, órgão que financiou a bolsa de estudos para o desenvolvimento deste trabalho, ao Centro de Pesquisa Álcool e Drogas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CPAD/HCPA), PPGCF e ao Laboratório de Produção de Padrões (LAPS) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por me iluminar sempre;

Aos meus pais Izabel e Hernandes, pelo amor incondicional e por sempre me apoiarem nas minhas escolhas;

À minha irmã, Daniella, pelo amor, apoio e companheirismo;

Ao Hebert, pelo carinho e apoio emocional, principalmente na fase final do trabalho;

Ao prof. Pedro Eduardo Fröhlich, pela oportunidade concedida, pela orientação, confiança, disponibilidade, ensinamentos e profissionalismo;

À prof. Ana Maria Bergold, pela amizade, apoio, incentivo e ensinamentos;

À prof. Renata Pereira Limberger, pelos ensinamentos e apoio;

Ao Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas e a todos os seus professores;

Ao Centro de Pesquisa em Álcool e Drogas/HCPA, pelos recursos financeiros e humanos, em especial à Cleide e ao prof. Flávio Pechansky;

Ao Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, em especial às técnicas de enfermagem Caína e Juliana e à enfermeira Suzana, pela disponibilidade e profissionalismo nas coletas;

Aos voluntários que participaram deste trabalho pela disponibilidade e paciência;

Aos queridos amigos do Lapps: Lisiane, Laura, Carol, Sirlei, Pâmela, Mariana, Tamara, Fernanda, Cristiane, Felipe, Leonardo Trevisan, Raquel, Viviane, Inélia, Graciela, Andréia, Marquinhos pela amizade, apoio e momentos de descontração;

Às minhas queridas amigas desde o início da graduação, Amanda Barden, Amanda Frasson, Thatiana, Andrea e Maiara pela amizade, conselhos e momentos de descontração;

Aos meus amigos que de alguma forma me ajudaram nessa trajetória, e compreenderam meus momentos de ausência;

RESUMO

AValiação da Farmacocinética do Mazindol em Plasma, Fluido Oral e Urina e Validação de Metodologias Analíticas

Segundo a International Narcotics Control Board (INCB), o consumo de medicamentos estimulantes anorexígenos nas Américas é o maior do mundo. Embora a quantidade de substâncias anorexígenas estimulantes consumida no Brasil tenha diminuído, altos níveis dessas substâncias ainda são consumidos nos Estados Unidos e na Argentina. Com o objetivo de manter o estado de alerta por longos períodos, motoristas profissionais utilizam essas substâncias, representando um grande risco da ocorrência de acidentes, tornando fundamental o monitoramento dessas substâncias para a prevenção de acidentes. O mazindol é um fármaco quimicamente não relacionado às anfetaminas, porém também possui característica anorexígena e estimulante do SNC e assim como a anfepramona e o femproporex foram recentemente retirados do mercado brasileiro com o argumento de não fornecer segurança quando utilizadas por longo período. Entretanto, mesmo com sua comercialização suspensa, pode ser obtido ilegalmente. Não há na literatura um método para a quantificação do fármaco em fluido oral, nem estudos de farmacocinética nesta matriz e também, não se sabe se há uma correlação entre os níveis do mazindol em plasma e em fluido oral. Face ao exposto, o presente estudo tem por objetivo geral desenvolver e validar técnicas cromatográficas sensíveis para a quantificação do mazindol em fluido oral, plasma e urina de voluntários, bem como avaliar sua farmacocinética e correlação entre os níveis plasmáticos e salivares do fármaco. Segundo as análises de caracterização da substância química de referência do mazindol (SQR) por espectroscopia nas regiões do infravermelho (IV) e do ultravioleta (UV), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), e espectrometria de massas (EM), foi possível confirmar a identidade da

amostra, permitindo o emprego da SQR para estudos posteriores. Metodologias para a determinação do mazindol em plasma, fluido oral e urina por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CLAE/EM) foram desenvolvidas, validadas. Os métodos foram aplicados com sucesso na estimação do perfil farmacocinético do mazindol no fluido oral, plasma e urina de sete indivíduos do sexo masculino, após a administração de dose única de especialidade farmacêutica contendo 2 mg de mazindol.

Palavras-chave: mazindol, validação de metodologias analíticas, estimulantes, farmacocinética

ABSTRACT

EVALUATION OF PHARMACOKINETIC OF MAZINDOL IN PLASMA, URINE AND ORAL FLUID AND VALIDATION OF ANALYTICS METHODS

According to the International Narcotics Control Board (INCB), the consumption of anorectic stimulant in the Americas is the largest in the world. Although the amount of anorectic stimulants consumed in Brazil has decreased, high levels are still consumed of these substances in the United States and Argentina. Aiming to maintain alertness for long time, professional drivers use these substances, representing a high risk of accidents, and making it essential to monitor these substances to prevent accidents. Mazindol is a drug chemically not related to amphetamines, but has anorexigenic and CNS stimulant action. As amfepramone and femproporex, mazindol was recently withdrawn from the market motivated by dubious risk-benefit ratio when used for long periods. However, even with its commercialization suspended, like other illicit substances, it can be obtained illicitly. Moreover, no method was found reporting the quantification of the drug in oral fluid, neither pharmacokinetic studies in this matrix nor the correlation between plasma and oral fluid levels. Therefore, this study aims to develop and validate methods for the quantification of mazindol in plasma, urine and oral fluid of volunteers as well as evaluate its pharmacokinetics and correlation between salivary and plasma levels of mazindol. The characterization of the reference chemical substance was performed by: infrared (IR) and ultraviolet (UV) spectrophotoscopic methods, as well as mass spectrometry. Thus, methods for determination of mazindol in human oral fluid, plasma and urine by liquid chromatography-mass spectrometry (LC/MS) were developed and validated. The methods were successfully applied to estimate the pharmacokinetic profile of mazindol in oral fluid, plasma and urine of seven male subjects after administration of a single dose of 2 mg mazindol.

Keywords: mazindol, LC/MS, validation of analytical methods, stimulant drug, oral fluid, plasma, pharmacokinetics

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Produção mundial de fármacos estimulantes em cada país no período de 2003 a 2012	33
Figura 2 - Principais fármacos estimulantes produzidos em 2012	34
Figura 3 - Estrutura química do mazindol	35
Figura 4 - Síntese do mazindol	40
Figura 5 - Estrutura química do mazindol para análise de relação estrutura-atividade	41
Figura 4.1 - Curva de aquecimento obtida por DSC para mazindol SQR	53
Figura 4.2 - Espectros na região do IV obtidos da literatura (A) e de forma experimental (B)	55
Figura 4.3 - Cromatogramas das soluções da SQR (A) e dos comprimidos de mazindol (Fagolipo® 2mg) (B) na concentração de 200 µg/mL. Condições cromatográficas: coluna MN C 18 (150 x 4,6 mm, 5 µm); fase móvel: trietilamina 0,3% (pH 3,5): acetonitrila (70:30, V/V); volume injetado : 20 µL	58
Figura 4.4 - Espectros de UV obtido da literatura (A) e das soluções de mazindol na concentração de 200 µg/mL da SQR (B) e dos comprimidos (Fagolipo® 2mg) (C)	60
Figura 4.5 - Espectro de varredura (SCAN) do mazindol SQR	62
Figura 4.6 - Elucidação dos fragmentos mais abundantes do mazindol SQR gerados da análise por CLAE/EM em modo SCAN	63

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BP	British Pharmacopoeia
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CG	Cromatografia Gasosa
DAD	Detecção de arranjos de diodos
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EM	Espectrometria de Massas
EMEA	European Medicines Agency
EUA	Estados Unidos
FDA	Food and Drug Administration
IV	Infravermelho
IR	Infrared
INCB	International Narcotics Control Board
MAO	Monoamina Oxidase
MPA	Medicamentos Psicotrópicos Anorexígenos
N ₂	Nitrogênio
REA	Relação estrutura-atividade
SEA	Substâncias estimulantes anorexígenas
SQR	Substância Química de Referência

SNC	Sistema Nervoso Central
UNODC	United Nations Office on Drugs and Crime
USP	United States of Pharmacopoeia
UV	Ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. OBJETIVOS.....	25
2.1 OBJETIVOS GERAIS.....	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	26
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	29
3.1 Medicamentos psicotrópicos anorexígenos.....	31
3.1.1 Mecanismo de ação.....	31
3.1.2 Efeitos farmacológicos.....	31
3.1.3 Consumo e abuso.....	32
3.1.4 Mazindol	34
3.1.4.1 Propriedades físico-químicas.....	35
3.1.4.2 Mecanismo de ação e utilização clínica.....	36
3.1.4.3 Efeitos adversos e tolerância.....	37
3.1.4.4 Farmacocinética.....	38
3.1.4.5 Aspectos regulatórios.....	39
3.1.4.6 Síntese do mazindol.....	40
3.1.4.7 Relação estrutura- atividade.....	40
3.1.4.8 Análise em fluidos biológicos.....	41
3.2 CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS E SALIVARES DE FÁRMACOS.....	43
3.3 REFERÊNCIAS.....	43

4. CAPÍTULO I - Análise qualitativa do mazindol SQR.....	49
4.1 INTRODUÇÃO.....	51
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO MAZINDOL SQR.....	52
4.2.1 Calorimetria exploratória diferencial e ponto de fusão.....	52
4.2.2 Espectrometria na região do IV.....	53
4.2.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	57
4.2.4 Espectrofotometria na região do UV.....	59
4.2.5 Espectrometria de massas (EM).....	60
4.3 CONCLUSÕES.....	63
4.4 REFERÊNCIAS.....	63
5. Capítulo II - Publicação científica - Determination of mazindol in human oral fluid by high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry-Biomedical Chromatography.....	67
6. Capítulo III - Publicação científica- Validation and application of a liquid chromatography – electrospray ionization mass spectrometric method for determination of mazindol in human plasma and urine.....	75
7. Capítulo IV- Publicação científica- Pharmacokinetics study of mazindol in plasma, oral fluid and urine of volunteers.....	95
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	115
9. ANEXOS.....	119

1. INTRODUÇÃO

Segundo a International Narcotics Control Board (INCB), o consumo de medicamentos estimulantes anorexígenos nas Américas é o maior do mundo. Em 2012, mais da metade das substâncias relacionadas na lista IV do Convênio de 1971 sobre Substâncias Psicotrópicas foram produzidas nos Estados Unidos, seguidos da Itália, Bélgica e Brasil. Com relação ao consumo, os Estados Unidos consumiram 74% do total, seguidos da Argentina, Austrália e Brasil em 2012. Esses altos níveis podem ser atribuídos à grande prevalência de prescrições, mas principalmente, pela obtenção dessas substâncias de forma ilícita (INTERNATIONAL NARCOTICS CONTROL BOARD, 2013).

No ano de 2010, o Brasil e a Bélgica produziram cerca de 99% da quantidade de femproporex consumida no mundo, já a produção mundial de mazindol, realizada principalmente na Argentina e no Brasil, se deu em quantidade superior à de anfepramona e de femproporex no mesmo ano (INTERNATIONAL NARCOTICS CONTROL BOARD, 2011).

Recentemente, todos os medicamentos anorexígenos utilizados no manejo da obesidade e sobrepeso, com exceção da sibutramina, foram retirados do mercado brasileiro pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Essa decisão coincide com a de outras agências reguladoras como a dos Estados Unidos (EUA), a Food and Drug Administration (FDA) e a Europeia, a European Medicines Agency (EMA), que proibiram, também, a comercialização da sibutramina. A evidência da falta de evidência a cerca da eficácia no tratamento, aliada ao aparecimento de inúmeros efeitos adversos centrais e periféricos motivou a decisão pela proibição da venda dos medicamentos em diversos países do mundo (PAUMGARTTEN, 2011).

A proibição da venda desses medicamentos no mercado brasileiro não significa a não utilização destes, a exemplo do que acontece nos EUA, que

mesmo proibidos há bastante tempo, continuam sendo utilizados de forma ilícita (INTERNATIONAL NARCOTICS CONTROL BOARD, 2012).

A busca pelo estado de alerta por longo período oferecido pelos medicamentos psicoestimulantes (MPA) motiva o uso dessas substâncias por motoristas profissionais, trazendo sérias consequências para a sociedade em geral, visto que o efeito destas substâncias quando utilizadas concomitantemente com a direção desencadeia alterações na percepção do condutor, aumentando o risco de acidentes. O ato de dirigir sob efeito do álcool e/ou de substâncias psicoativas constitui infração gravíssima, com pena de suspensão do direito de dirigir. Sabe-se com bastante clareza o impacto econômico que ele representa para a saúde pública, trazendo grande relevância para o assunto (PECHANSKY et al., 2010).

A detecção de MPA em matrizes biológicas como plasma, fluido oral e urina por técnicas rápidas, sensíveis e específicas, é cada vez mais importante na prevenção e controle de acidentes de trânsito. Em países como Portugal e Austrália, a fiscalização do uso de substâncias psicoativas por motoristas é feita por testes de triagem em fluido oral seguidos de testes confirmatórios em plasma e é regulamentada por uma legislação específica. No Brasil, apenas a fiscalização da utilização de álcool é realizada (PECHANSKY et al., 2010).

O mazindol, assim como algumas outras substâncias psicoativas, é caracterizado por ser uma base fraca, o que faz dele um grande candidato a promover boa correlação de níveis plasmáticos com salivares devido ao fato de no plasma estar menos ionizado do que no fluido oral em função deste possuir pH mais ácido que o plasma, impedindo o retorno do fármaco à corrente sanguínea (MOFFAT et al., 2004).

Este estudo está inserido no projeto “Estudo do impacto do uso de bebidas alcoólicas e outras substâncias psicoativas no trânsito brasileiro”, que objetiva avaliar o consumo de substâncias psicoativas por motoristas profissionais e privados através da coleta de amostras de fluido oral. Cabe ressaltar que o presente trabalho foi aprovado pela Comissão Científica/Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde do Grupo de Pesquisa e Pós-graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG/HCPA) (PECHANSKY & DE BONI, 2007).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Desenvolver e validar métodos analíticos para a quantificação do mazindol em fluido oral, plasma e urina de voluntários. Avaliar a farmacocinética do mazindol após a administração oral de comprimidos de Fagolipo[®] 2 mg, bem como verificar se há uma correlação entre os níveis do fármaco em fluido oral e plasma.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a substância química de referência (SQR) do fármaco através de análise térmica, espectrofotometria na região do infravermelho (IV), ultravioleta (UV) e espectrometria de massas (EM);
- Desenvolver e validar métodos analíticos para quantificar o mazindol em plasma, urina e fluido oral de voluntários saudáveis, empregando cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à EM (CLAE-EM);
- Avaliar a estabilidade do fármaco nas três matrizes biológicas;
- Avaliar a farmacocinética preliminar do mazindol em plasma e fluido oral de voluntários saudáveis;
- Investigar a correlação entre os níveis plasmáticos e salivares do fármaco a fim de propor o fluido oral como matriz alternativa ao plasma.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 MEDICAMENTOS PSICOTRÓPICOS ANOREXÍGENOS

3.1.1 Mecanismo de ação

Os psicotrópicos anorexígenos relacionados na lista IV do Convênio de 1971 sobre Substâncias Psicotrópicas representam uma classe de medicamentos composta principalmente pela fentermina, anfepramona, femproporex e pelo mazindol. Com exceção do mazindol, esses fármacos apresentam em sua estrutura química o grupamento feniletilamina, semelhante ao das catecolaminas endógenas e por isso são chamadas de aminas simpatomiméticas. De modo geral, esses fármacos agem como agonistas simpatomiméticos de ação indireta, possuindo ação estimulante sobre o sistema nervoso central (SNC) e ação periférica sobre os receptores α e β adrenérgicos (CHASIN e SILVA, 2003; LA TORRE et al., 2004; RANG et al., 2007; BRUNTON et al., 2010).

Essas substâncias atuam desencadeando a inibição da recaptação de serotonina, dopamina e noradrenalina, promovendo também o aumento da liberação desses neurotransmissores nos terminais nervosos (RANG, 2007; BRUNTON et al., 2010). Além disso, podem agir inibindo a Monoamina Oxidase (MAO), enzima responsável pelo metabolismo das catecolaminas, resultando em um aumento dos neurotransmissores na fenda sináptica (RANG, 2007; BRUNTON et al., 2010). A fenteramina e a anfepramona são aminas simpatomiméticas estruturalmente relacionadas às anfetaminas, mas diferem farmacologicamente por apresentarem pouco efeito sobre a liberação de dopamina (BRAY, 2000; BRUNTON et al., 2010).

3.1.2 Efeitos farmacológicos

De forma geral, as substâncias psicotrópicas anorexígenas aumentam o estado de vigília e as capacidades motoras e de concentração, diminuem a fadiga, melhoram o ânimo, assim como também possuem ação sobre receptores do centro da fome

localizados na região lateral do hipotálamo (BRUNTON et al., 2010). Entretanto, quando utilizadas por longos períodos ou em altas doses podem causar hipertensão, insônia, tremores, taquicardia, irritação, vômitos, arritmias, alucinações e comportamento agressivo (RANG, 2007; BRUNTON et al., 2010).

3.1.3 Consumo e abuso

De acordo com um relatório da *United Nations Office on Drugs and Crime* (UNDOC) de 2011, o abuso de medicamentos se tornou uma pandemia de magnitude ainda desconhecida. Os avanços na indústria farmacêutica proporcionaram a produção dos mais diversos medicamentos psicoativos, que quando prescritos e utilizados de forma correta, melhoram a qualidade de vida dos pacientes. No entanto, quando empregados de forma inadequada, estes medicamentos podem trazer consequências graves para a saúde e, em alguns casos, resultar em dependência. Os medicamentos utilizados de forma abusiva podem ser obtidos das mais variadas maneiras, incluindo a obtenção de prescrições ou medicamentos através de amigos ou familiares, prescrição de doses acima da utilizada, falsificação de receitas médicas, compras ilegais através da internet e desvio de medicamentos de hospitais e farmácias (UNDOC, 2011).

Recentemente, no ano de 2011, as formulações farmacêuticas contendo femproporex, anfepramona e mazindol foram retiradas do mercado brasileiro em função do questionamento sobre os estudos que comprovam a relação favorável de eficácia/segurança que esses medicamentos possuem quando utilizados na terapêutica por longos períodos (PAUMGARTTEN, 2011).

Uma das mais potentes substâncias estimulantes do SNC, a anfetamina, foi o primeiro derivado da feniletilamina a ter seu efeito anorexígeno comprovado. Por possuir alto poder de abuso e dependência, sua comercialização foi suspensa do mercado brasileiro, mas em países como Chile e Estados Unidos a substância é utilizada para o tratamento da narcolepsia e transtornos de déficit de atenção e

hiperatividade. Entretanto seu uso de forma abusiva é frequente em todo o mundo (FDA, 2012; ISPC, 2013).

Com relação à produção mundial de fármacos estimulantes pertencentes à lista IV do relatório da *International Narcotics Control Board* (2013), as Américas lideraram as estatísticas no período de 2003 a 2012 (figura 1), com destaque para Estados Unidos e Brasil, sendo que em 2012, a produção mundial foi de 84% de fentermina, 10% de mazindol, 5% de anfepramona e 1% de fendimetazina (figura 2).

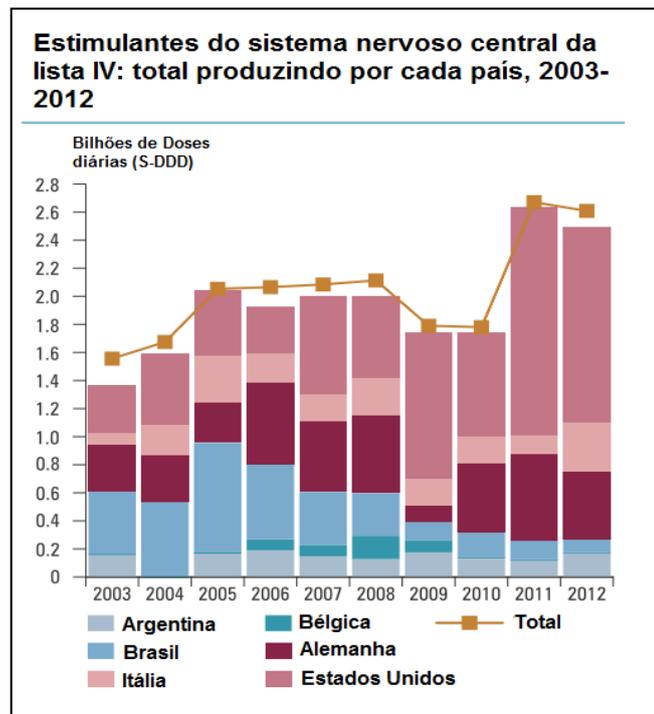


Figura 1 - Produção mundial de fármacos estimulantes em cada país no período de 2003 a 2012 (Adaptado de INCB, 2013).

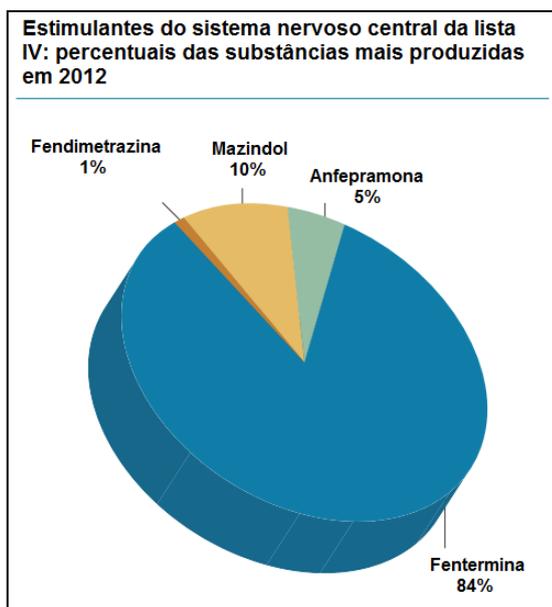


Figura 2 - Principais fármacos estimulantes produzidos em 2012 (Adaptado de INCB, 2013).

Por proporcionar estado de alerta por longos períodos, a utilização de substâncias estimulantes anorexígenas por motoristas profissionais vem sendo realizada há bastante tempo, representando um grande risco de acidentes e, conseqüentemente, um impacto econômico para a sociedade de um modo geral (PECHANSKY, et al., 2010; DE BONI, et al., 2011).

3.1.4 Mazindol

O mazindol é um fármaco quimicamente não relacionado às anfetaminas, porém também possui característica anorexígena. Foi desenvolvido na década de

1960 pela empresa Sandoz-Wander para o tratamento da obesidade, quando associado à dieta hipocalórica (FDA, 2012).

3.1.4.1 Propriedades físico-químicas (MOFFAT et al., 2004)

- Nome químico: 5-(p-clorofenil)- 2,5-diidro-3H-imidazo [2,1-a] isoindol-5-ol
- Chemical Abstracts Service CAS: 22232-71-9
- Fórmula molecular: $C_{16}H_{13}ClN_2O$
- Estrutura química: Ver figura 2
- Peso molecular: 284,74 g/mol
- Solubilidade: insolúvel em água, solúvel em etanol
- pka: 8,6
- Coeficiente de partição (log P octanol/ água): 4,1

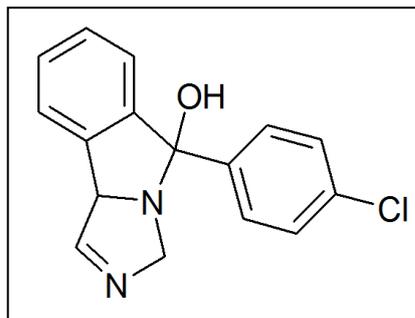


Figura 3 - Estrutura química do mazindol (MOFFAT et al., 2004).

3.1.4.2 Mecanismo de ação e utilização clínica

A atividade supressora do apetite do fármaco é mediada pelo aumento da liberação de dopamina e inibição da recaptção de noradrenalina e dopamina no cérebro (BRAY, 2000; RANG, 2007; ANVISA, 2011). O fármaco parece alterar o metabolismo energético, aumentando a captação de glicose pelo músculo esquelético além de reduzir sua absorção intestinal (MARTINDALE, 2011).

Um estudo foi realizado com o objetivo de esclarecer os efeitos do mazindol sobre o peso corporal em 13 pacientes com obesidade mórbida que já haviam feito uma dieta hipocalórica contendo 480 kcal diárias. Ao final do estudo, as pacientes tratadas perderam em média 2,9 kg após 4 semanas, 4,9 kg após 8 semanas e 6,9 kg após 12 semanas de tratamento utilizando o medicamento em conjunto com dieta de 1000 kcal diárias (NISHIKAWA et al., 1996). BRAY e GREENWAY (1999) reportaram que não há estudos clínicos randomizados demonstrando a eficácia e segurança da utilização do mazindol por longos períodos em pacientes cardíacos. Em nota técnica relatada pela ANVISA sobre eficácia e segurança dos medicamentos inibidores de apetite, foi mencionada a contribuição significativa da utilização do mazindol na perda de peso (6,4 kg contra 2,6 kg do grupo placebo) durante três meses de tratamento. No entanto, a perda de peso não foi mantida após o término do tratamento (ANVISA, 2012).

Alguns trabalhos existentes na literatura reportam o uso do mazindol para o tratamento da dependência da cocaína em função da maior afinidade do mazindol pelos receptores dopaminérgicos na região do núcleo *accumbens* (STINE, 1995; PERRY et al., 2004; MARIANI & LEVIN, 2012). CASTELLS e colaboradores (2007) realizaram revisão sistemática e uma metanálise na qual foi avaliada a eficácia do mazindol e de outros estimulantes na terapia da dependência da cocaína em humanos. Os autores puderam concluir que o uso dos estimulantes no tratamento

da dependência de cocaína não foi significativamente mais eficaz que o placebo. MARGOLIN e colaboradores (1995) realizaram um ensaio clínico duplo-cego controlado por placebo, com 37 pacientes, e também não constataram diferença estatisticamente significativa entre os grupos de tratamento placebo e o emprego do mazindol no manejo da dependência de cocaína. Entretanto, os autores mencionaram o limitado poder estatístico que o estudo possuiu em função do baixo número de voluntários utilizado.

A narcolepsia é uma doença caracterizada pela sonolência excessiva diurna, o que pode colocar o indivíduo em perigo durante a realização de tarefas cotidianas. Em estudo recentemente publicado e de grande relevância, foi avaliada a efetividade e os efeitos adversos do mazindol em 139 pacientes franceses com narcolepsia e hipersonia refratários, sendo que 83 (60%) realizaram a terapia por 30 meses. Os efeitos adversos mais comuns foram: 13% boca seca, 10% palpitações, 6% anorexia, 6% nervosismo e 6% cefaleia, não havendo o relato do aparecimento de hipertensão pulmonar nos 45 pacientes que foram submetidos a eletrocardiografia. Os autores ressaltaram o benefício que o fármaco proporcionou aos pacientes, sendo considerado por eles quase duas vezes mais eficaz que o fármaco de primeira escolha (modafinil) para o tratamento do distúrbio (NITTUR et al.,2012).

3.1.4.3 Efeitos adversos e tolerância

Os principais efeitos adversos do mazindol são redução do sono e do apetite, euforia, midríase, aparecimento de batimentos cardíacos irregulares e elevação da pressão arterial. Além disso, há relatos da ocorrência de alucinações, cefaleia, constipação, agitação e tremores (ANVISA, 2011; USP-DI 2013). Foi constatado

também o aparecimento de 2000 casos de hipertensão pulmonar em pacientes que utilizavam o medicamento por mais de doze meses (ANVISA, 2011).

Em razão da possibilidade do desenvolvimento de tolerância pelo paciente, os efeitos terapêuticos são diminuídos em poucas semanas de tratamento, sendo, neste caso, aconselhada a interrupção do tratamento, uma vez que um aumento da dose a fim de melhorar os efeitos clínicos não é indicado (ANVISA, 2011).

3.1.4.4 Farmacocinética

Após administração oral de dose única de comprimidos de 2 mg, o mazindol é lenta e completamente absorvido, atingindo concentração máxima sérica entre três e oito horas após administração, com 77% de taxa de ligação às proteínas plasmáticas. Com relação ao seu metabolismo, o fármaco é metabolizado por conjugação hepática, sendo os principais metabólitos 5-(p-clorofenil)2,5-diidro-5-hidroxi-3H-imidazol (2,1-a) isoindol-3-ona e 2-(p-clorobenzoil)-N-2-(aminoetil) benzamida, cujas atividades não foram determinadas. O tempo de meia-vida de eliminação é de cerca de dez horas e o fármaco é principalmente excretado pela via renal (USP-DI, 2013).

A literatura reporta dois estudos farmacocinéticos do mazindol; um em plasma e cérebro de camundongos, publicado em 2004, no qual os parâmetros farmacocinéticos foram calculados após administração de 0,5 mg/kg via intraperitonal (NAKASHIMA et al., 2004) e outro, mais recente, onde a farmacocinética do mazindol foi avaliada em plasma de 24 voluntários após a administração oral de 2 mg do fármaco (KIM et al., 2009). Os parâmetros calculados para plasma estão expressos na tabela 1.

Tabela 1 - Farmacocinética do mazindol em plasma de camundongos e de humanos após administração de dose única do fármaco, com doses de 0,5 mg/kg (n=3) via intraperitonal em camundongos e 2 mg via oral em humanos (n=24).

	Plasma de camundongos (n=3)*	Plasma humano (n=24)**
C_{max}	17,5 ng/mL	5,07 ng/mL
T_{max}	15 min	3,27 h
$T_{1/2}$	27 min	9,10 h
$AUC_{0-\infty}$	941 ng/min/mL	72,68 ng/h/mL
K_{el}	0,026 min ⁻¹	0,0762 h ⁻¹
Cl	531 mL/min/kg	-

* NAKASHIMA et al., 2004

** KIM et al., 2009

3.1.4.5 Aspectos regulatórios

O mazindol foi aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) em 1973 para o tratamento da obesidade por períodos curtos e em 1999 foi retirado desta lista, dificultando o aparecimento de estudos que comprovem a eficácia e segurança do emprego do fármaco para outra indicação terapêutica (FDA, 2012). Seguindo o exemplo do FDA, o fármaco também não é mais comercializado na União Europeia, Canadá e Japão, mas ainda pode ser encontrado no mercado argentino (ANVISA, 2011; ANMAT, 2014).

A ausência de estudos clínicos de fase III assegurando a eficácia e segurança do mazindol quando utilizado por longos períodos, juntamente com o aparecimento de casos de hipertensão pulmonar, motivou a retirada da formulação farmacêutica também do mercado brasileiro, no ano de 2011 (ANVISA, 2011).

3.1.4.6 Síntese do mazindol

A obtenção do mazindol pode ser realizada por diferentes métodos. Em um deles (figura 3), na primeira etapa ocorre a formação de um composto contendo lítio, como resultado da reação entre a 2-fenil-2-imidazolina e o butil-lítio em excesso. Este composto reage com p-clorobenzoato de metila, formando o mazindol (GALINIERL et al., 1993).

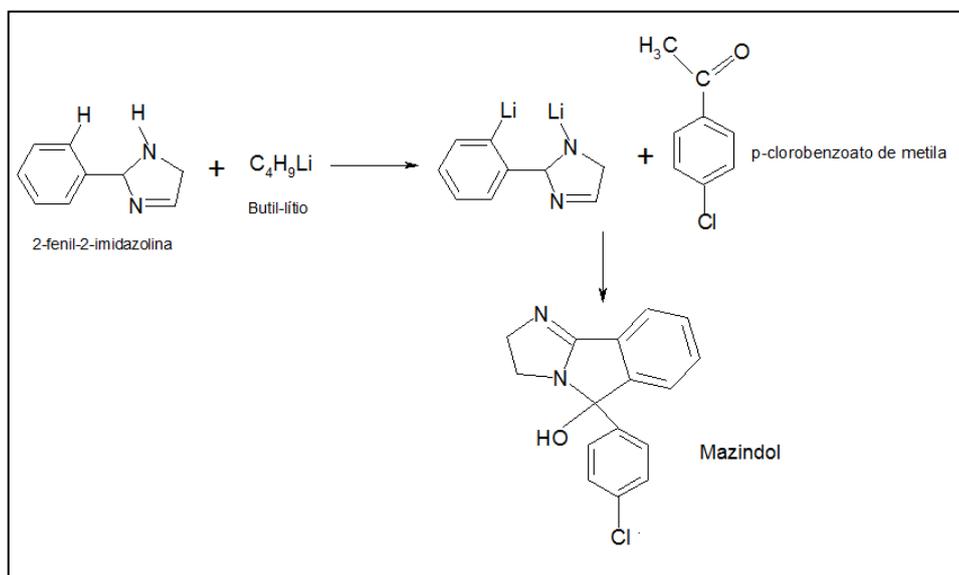


Figura 4 - Síntese do mazindol (adaptado de GALINIERL et al., 1993).

3.1.4.7 Relação estrutura- atividade

Estudos sobre a relação estrutura-atividade (REA) do mazindol (figura 4) mostram que a remoção do átomo de cloro em *para* resulta em composto com

atividade farmacológica apenas inibidora da recaptação da noradrenalina. Caso o anel imidazólico, sofresse acréscimo de mais um átomo, a potência do fármaco tenderia a aumentar. Se mais um anel benzeno fosse inserido ao anel D, formando um naftaleno, poderia haver diminuição na atividade do fármaco. A disposição dos anéis C e D parece ser importante para a atividade do fármaco, enquanto que o nitrogênio mais básico do anel A possui papel importante, pois ele é o responsável pela ligação de hidrogênio com o receptor. Além disso, a disposição tricíclica dos anéis A, B e C constitui o farmacóforo da molécula (KULKARNI et al., 2002).

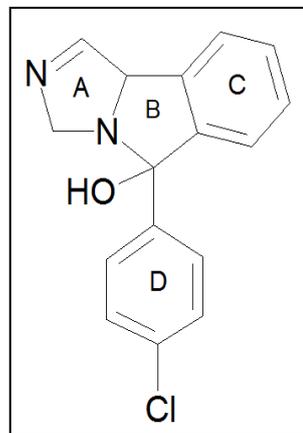


Figura 5 - Estrutura química do mazindol para análise da relação estrutura-atividade (MOFFAT et al., 2004).

3.1.4.8 Análise em fluidos biológicos

NAKASHIMA e colaboradores (2004) desenvolveram e validaram um método para quantificação do mazindol e um dos seus metabólitos, a (2-(2-aminoetil)-3-(*p*-clorofenil)-3-hidroxiftalimidina (Met), em plasma e cérebro de camundongos utilizando CLAE com detecção por fluorescência objetivando um método altamente

sensível. Embora o mazindol não possua fluorescência intrínseca, foi desenvolvido neste trabalho um protocolo de derivatização que incluía duas etapas, a primeira, uma hidrólise para formação de uma amina primária, seguida de uma reação de conjugação com um reagente de fluorescência. Para os ensaios não foi empregado padrão interno, o que não é recomendável pelos guias de validação devido à alta taxa de variação atribuída à extração do fármaco da matriz biológica (BRASIL, 2012). Os autores também citaram a instabilidade do mazindol em plasma à temperatura ambiente e aconselharam a adição de tampão formato de amônio à amostra com o objetivo de evitar a hidrólise do fármaco, que ocorre em pH neutro a alcalino. Após a validação, alguns parâmetros farmacocinéticos foram calculados pelo método não-compartimental para o fármaco e seu metabólito. Também é importante salientar que os autores utilizaram apenas três camundongos para o estudo em plasma (NAKASHIMA et al., 2004).

Em 2009, foi publicado um método desenvolvido e validado para a quantificação do mazindol em plasma humano por CLAE/EM. Foi avaliada, também, a estabilidade do fármaco na matriz e realizado um estudo de farmacocinética em voluntários (n=24) que receberam dose única de 2 mg do medicamento, por via oral (KIM et al., 2009).

A Cromatografia Gasosa (CG) acoplada à EM (CG/EM), após a extração em fase sólida também foi utilizada para desenvolvimento de uma metodologia para quantificação do mazindol em urina de equinos. Entretanto, vinte e oito horas após a administração do fármaco, o mesmo não pôde ser quantificado nas amostras. Embora o mazindol não seja uma molécula com volatilidade, os autores não mencionam a derivatização das amostras, mas possivelmente o procedimento foi realizado (MOORE et al., 1990).

Análises utilizando cabelo como matriz são úteis no monitoramento de substâncias que são utilizadas cronicamente, pois a janela de detecção (de meses) é muito maior que outras matrizes como urina e plasma. A análise de drogas de

abuso em cabelo possibilita informações importantes e por um período mais prolongado, sendo possível saber a duração do uso e de abstinência. Recentemente, LEE e colaboradores (2012) publicaram um trabalho no qual foi realizada uma validação multianálise em cabelo humano por CLAE-EM/EM de sete substâncias anorexígenas, dentre elas o mazindol e alguns de seus metabólitos. O método foi validado com sucesso e aplicado para análise das substâncias em 39 possíveis usuários, sendo a fentermina a substância mais encontrada.

3.2 CORRELAÇÃO ENTRE OS NÍVEIS PLASMÁTICOS E SALIVARES DE FÁRMACOS

O fluido oral vem se mostrando uma boa matriz alternativa para monitorar fármacos por possuir diversas vantagens frente ao plasma, como a facilidade da coleta de forma não invasiva e o fato de fornecer informações sobre o consumo recente de determinada substância. Fármacos considerados bases fracas, com baixo peso molecular e baixa taxa de ligação às proteínas plasmáticas tendem a se acumular nessa matriz, pois o pH inferior ao plasmático favorece a ionização e impede seu retorno à corrente sanguínea (FAGIOLINO, 1999; CROUCH, 2005).

Vindenes e colaboradores realizaram, em 2011, um estudo no qual foram detectadas algumas drogas de abuso em urina, sangue e fluido oral de cem condutores noruegueses sob suspeita do uso das substâncias. Os resultados demonstraram boa correlação entre os níveis de urina e fluido oral para anfetaminas, cocaína, metadona, opioides e benzodiazepínicos. Ademais, todas as substâncias detectadas no sangue também foram encontradas no fluido oral.

3.3 REFERÊNCIAS

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Nota técnica sobre a eficácia e segurança dos medicamentos inibidores de apetite**. Brasília, 2011.

ANMAT- Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica. **Regulación**. Disponível em http://www.anmat.gov.ar/boletin_anmat/enero_2013/Dispo_0553-13.pdf Acesso em 11/03/2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n.º 27, de 17 de maio de 2012. **Dispõe sobre os requisitos mínimos para a validação de métodos bioanalíticos empregados em estudos com fins de registro e pós-registro de medicamentos**.

BRAY, G. A. A. Concise Review on the Therapeutics of Obesity. **Nutrition**, v. 16, n.10, p. 953-960, 2000.

BRAY, G. A.; GREENWAY, F. L. Current and potential drugs for treatment of obesity. **Endocrine Reviews**, v. 20, p. 805–875, 1999.

BRUNTON, L.; PARKER, K. P.; BLUMENTHAL, D. K.; BRUXTON, I. L. O. (Ed.) Goodman & Gilman. **Manual de Farmacologia e terapêutica**. 1.ed. New York: MacGraw-Hill, 2010.

CASTELLS, X.; CASAS, M.; VIDAL, X.; BOSCH, R.; RONCERO, C.; GUIRONGA, J. A. R.; CAPELLÀ, D. Efficacy of central nervous system stimulant treatment for cocaine dependence: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. **Addiction**, v. 102, n. 12, p. 1871-1887, 2007.

CHASIN, A. A. M.; SILVA, E. S. **Estimulantes do sistema nervoso central**. In: OGA, S. Fundamentos de toxicologia. 2. ed. São Paulo: Atheneu Editora, 2003.

CROUCH DJ. Oral fluid collection: the neglected variable in oral fluid testing. **Forensic Science International**, v. 150, p.165-73, 2005.

DE BONI, R.; BOZZETTI, M. C., HILGERT, J.; SOUSA, T.; VON DIEMEN, L.; BENZANO, D.; MENEGON, G.; HOLMER, B.; DUARTE, P. C. A. V.; PECHANSKY, F. Factors associated with alcohol and drug use among traffic crash victims in southern Brazil. **Accident Analysis and Prevention**, v. 43 p. 1408–1413, 2011.

FAGIOLINO, P. **Monitorización de fármacos en saliva: aplicaciones biofarmacéuticas, farmacocinéticas y terapéuticas**. Montevideo: Comisión Sectorial de Investigación Científica de la Universidad de la República, 1999.

FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Dockets Management**. Disponível em <<http://www.fda.gov/ohrms/dockets/dailys/07/aug07/082007/082007.htm>>. Acesso em 13/10/2012.

GALINIERL, E.; GARREAUL, L.; DOGNONL, A. M.; OMBETTA-GOKAZ, J. E.; FRANGIN, Y.; CHALONL, S.; BESNARDJC, L.; GUILLOTEAUL, D. Synthesis of halogenated analogs of 5-(4-chlorophenyl)-2,3-dihydro-5-hydroxy-5H-imidazo[2,1-a]-isoindole or mazindol for exploration of the dopamine transporter. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 28, p. 927-933, 1993.

INCB - International Narcotics Control Board. **Psychotropic Substances Statistics for 2010**. New York: United Nations, 2011.

INCB - International Narcotics Control Board. **Psychotropic Substances Statistics for 2011**. New York: United Nations, 2012.

ISPC - Instituto de Salud Pública de Chile. Productos com Registro. Disponível em: <<http://www.ispch.cl/>>. Acesso em: 03 ago. 2013.

KIM, S. S; LEE, H. W; LEE, K. T. Validated method for determination of mazindol in human plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography B**, v. 877, p. 1011–1016, 2009.

KULKARNI, S. S.; NEWMAN, A. H.; HOULIHAN, W. J. Three-dimensional quantitative structure - activity relationships of mazindol analogues at the dopamine transporter. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 45, p. 4119–4127, 2002.

LA TORRE, R. W.; FARRÉ, M.; NAVARRO, M.; PACIFICI, R.; SUCCARO, P.; PICHINI, S. Clinical pharmacokinetics of amphetamine and related substances: monitoring in conventional and non-conventional matrices. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 43, n. 3, p. 157-185, 2004.

LEE, S.; KIM, J.; IN, S.; CHOI, H.; OH, S. M.; JANG, C. G.; CHUNG, K. H. Development of a simultaneous analytical method for selected anorectics, methamphetamine, MDMA, and their metabolites in hair using LC-MS/MS to prove anorectics abuse. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 403, n. 5, p. 1385-1394, 2012.

MARGOLIN, A.; AVANTS, S. K.; KOSTEN, T. R. Mazindol for Relapse Prevention to Cocaine Abuse in Methadone-Maintained Patients. **American Journal of Drug and Alcohol Abuse**, v. 21, p. 469-481, 1995.

MARIANI, J. J.; LEVIN, F.R. Psychostimulant treatment of cocaine dependence. **Psychiatric Clinics of North America**, v. 35, p. 425–439, 2012.

MARTINDALE. **The Complete Drug Reference**, 37 ed, 2011.

MOFFAT, A. C; OSSELTON, M. D; WIDDOP, B. **Clarke`s analysis of drug and poisons**, 3.ed., v.1. London: Pharmaceutical Press, 2004.

MOORE, C. M.; TEBBETT, I. R.; KALITAO, S.; ARTEMEMKOO, M. Rapid extraction and detection of mazindol in horse urine. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, v. 8, p. 445-448, 1990.

NAKASHIMA, K.; KADDOUMI, A.; MORI, M.; NAKASHIMA, M. N.; WADA, M.; ABOUL-ENEIN, H.Y. High-performance liquid chromatographic method for the

disposition of mazindol and its metabolite 2-(2-aminoethyl)-3-(p-chlorophenyl)-3-hydroxyphthalimidine in mouse brain and plasma. **Analytica Chimica Acta**, v. 502, p. 39–47, 2004.

NISHIKAWA, T.; IIZUKA, T.; OMURA, M.; KURAMOTO, N.; MIKI, T.; ITO, H.; CHIBA, S. Effect of Mazindol on Body Weight and Insulin Sensitivity in Severely Obese Patients after a Very-Low-Calorie Diet Therapy. **Endocrinal Journal**, v. 43, p. 671- 677, 1996.

NITTUR, N.; KONOFAL, E.; DAUVILLIERS, Y.; FRANCO, P.; LEU-SEMENESCU, S.; DE COCK, V. C.; INOCENTE, C. O.; BAYARD, S.; SCHOLTZ, S.; LECENDREUX, M.; ARNULF, I. Mazindol in narcolepsy and idiopathic and symptomatic hypersomnia refractory to stimulants: A long-term chart review. **Sleep Medicine**, v. 1, p. 30-6, 2013.

PAUMGARTTEN F. J. R.; **A retirada dos inibidores de apetite do mercado.**

Disponível em

<<http://www.anvisa.gov.br/hotsite/anorexigenos/pdf/FolhaSaoPauloCateme%20Paumgarten.pdf>>. Acesso em 20/09/2012.

PECHANSKY, F.; DE BONI, R. **Estudo do impacto do uso de bebidas alcoólicas e outras substâncias psicoativas no trânsito brasileiro.** Porto Alegre: Centro de Pesquisa em Álcool e Drogas da UFRGS, 2007. Projeto de Pesquisa MED/SENAD nº 2929-7. Aprovado e cadastrado no Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre sob nº 07-069.

PECHANSKY, F.; DUARTE, P. C. A. F.; DE BONI, R. B. (Org.) **Uso de bebidas alcoólicas e outras drogas nas rodovias brasileiras e outros estudos.** Porto Alegre: Secretaria Nacional de Políticas sobre Drogas; 2010.

PERRY JR., E. B., GIL, R., MILES, D., BRENNER, L., MACDOUGALL, L., JOHNSON, R., DEGEN, K., D'SOUZA, D. C. Mazindol augmentation of antipsychotic

reatment for schizophrenic patients with comorbid cocaine abuse or dependence: A preliminary double-blind, randomized, placebo-controlled trial. **Journal of Dual Diagnosis**, v. 1, p. 37-47, 2004.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. Rang & Dale - Farmacologia. 6. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. p. 165.

STINE, S. M.; KRYTALAVB, J. H.; KOSTENAVC, T. R.; CHAMEYA'B, D. S. Mazindol treatment for cocaine dependence. **Drug and Alcohol Dependence**, v. 39, p. 245-252, 1995.

UNODC - United Nations Office on Drugs and Crime. **World Drug Report 2010**. New York: United Nations, 2011.

USP-DI. Drug Information for the Health Care Professional. 25th ed. Greenwood Village : Thomson Micromedex, v.1, 2013.

VINDENES, V.; LUND, H. M. E.; ANDRESEN, W.; GJERDE, H.; IKDAHL, S. E.; CHRISTOPHERSEN, A. S.; ØIESTAD, E. L. Detection of drugs of abuse in simultaneously collected oral fluid, urine and blood from Norwegian drug drivers. **Forensic Science International**, v. 219, p. 165–171, 2012.

4. CAPÍTULO I

Análise qualitativa do mazindol SQR

4.1 INTRODUÇÃO

A análise de fármacos e metabólitos em matrizes biológicas, assim como o controle de qualidade de fármacos e medicamentos, exige o emprego de substâncias de referência (SQR) de pureza conhecida. De acordo com o FDA (2001), as SQR podem ser classificadas como compendiais e não-compendiais. As SQR compendiais são, principalmente, obtidas comercialmente de fontes como a United States Pharmacopeia (USP) ou British Pharmacopoeia (BP) e não há necessidade da realização de ensaios de caracterização ou de padronização. Entretanto, as SQR não-compendiais são provenientes de outras fontes que não as farmacopeicas, havendo, assim, a necessidade de caracterizá-las (SWARTZ e KRULL, 1998).

Ensaio para caracterização de uma SQR podem ser realizados através de diversas técnicas, como a espectrometria nas regiões do infravermelho (IV) e do ultravioleta (UV), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectrometria de massas (EM) e CLAE, entre outras. No entanto, quando consideradas de maneira isolada não é possível a obtenção de dados confirmatórios sobre a identificação de uma substância, sendo de fundamental importância o emprego do maior número de testes possíveis na caracterização de uma SQR (WATSON, 2005).

Considerando que o mazindol é um fármaco que pertence à lista das substâncias psicotrópicas anorexígenas (BRASIL, 1998) e que a importação de um padrão farmacopeico seria de extrema dificuldade, optou-se pela utilização de uma SQR não-compendial, obtida anteriormente à sua retirada do mercado brasileiro. A SQR utilizada na presente tese apresenta teor declarado de 99,06%, identificado pelo lote 604707 e fornecido pela empresa Genix (Anápolis, Brasil).

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO MAZINDOL SQR

4.2.1 Calorimetria exploratória diferencial e ponto de fusão

A DSC é uma técnica calorimétrica de escolha para caracterizar SQR, pois é capaz de fornecer dados detalhados sobre propriedades físicas e energéticas de uma substância (CLAS et al., 1999). Essa técnica determina de maneira exata a entalpia de fusão determinando a ocorrência de degradação ou decomposição da amostra, além da conversão polimórfica durante o processo de fusão (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002).

Para a realização da DSC, cerca de 1 mg de mazindol SQR foi transferido para um recipiente de alumínio com capacidade de 4 μ L, devidamente selado e colocado no forno do calorímetro exploratório de varredura. A velocidade de aquecimento aplicada foi de 10 °C/min dentro de uma faixa de 25 a 250 °C empregando nitrogênio (N₂) como gás de arraste a uma vazão de 50 L/min.

As análises foram realizadas em calorímetro da marca Shimadzu (DSC-60), dotado de controlador de fluxo para gás de purga (N₂, FC-60-A), integrador (TA-60WS) e software de controle de análise (TA-60, versão 2.0).

A figura 4.1 representa a curva de aquecimento obtida por DSC para o mazindol SQR.

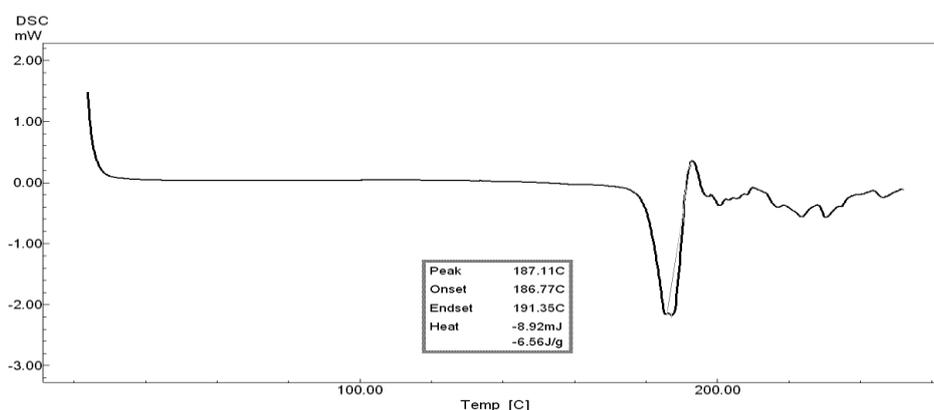


Figura 4.1- Curva de aquecimento obtida por DSC para mazindol SQR

Ao analisar a curva de aquecimento do mazindol SQR, é possível inferir que a amostra apresenta considerável grau de pureza em função do perfil estreito do pico. Além disso, é possível observar também um evento endotérmico com temperatura de 186,77 °C (onset), 187,11 °C (peak) e 191,35 °C (endset), correspondente à fusão do fármaco. Ademais, para a fusão de cada grama de amostra são necessários -6,56 J.

Paralelamente, o ponto de fusão foi determinado no equipamento automático Mettler Toledo (Mod. FP90), onde o fármaco foi adicionado em tubos capilares com 1 mm de espessura e 6 cm de comprimento. O estudo foi realizado em triplicata. O resultado do experimento (média de 187 °C) foi próximo ao encontrado no ensaio de DSC. Entretanto, ao se buscar valores de referência na literatura, foi observada divergência nestes, variando de 179 a 215 °C, tornando o ensaio pouco conclusivo, considerando que não há relatos de polimorfismo do mazindol na literatura (THE MERCK INDEX, 2000; CLARKE'S, 2004; SIGMA-ALDRICH, 2011).

4.2.2 Espectroscopia na região do IV

A radiação infravermelha se situa no espectro eletromagnético entre as regiões do visível e microondas (SILVERSTEIN et al., 2005). A espectroscopia na região do infravermelho é uma técnica que se fundamenta na medida da vibração dos átomos que compõem as moléculas. As bandas do espectro de infravermelho são resultantes da absorção de energia incidida na amostra, características de cada grupamento (STUART, 2004).

A partir da análise das bandas de absorção, é possível realizar a identificação de uma substância e predizer, com frequência, se há impurezas ou polimorfos na amostra. Assim, a espectrometria na região do infravermelho constitui uma importante ferramenta na caracterização de SQR (SILVERSTEIN et al., 2005; WATSON, 2005).

A caracterização do mazindol SQR foi realizada por refletância total atenuada (ATR), através da leitura direta do pó da amostra pelo equipamento. Para a execução do ensaio, foi utilizado um espectrofotômetro FTIR da marca Shimadzu, (Mod. 8001). Para fins de comparação, buscou-se um espectro do mazindol na literatura (DIBBERN et al., 2002). Os espectros estão representados na figura 4.2 e a interpretação dos mesmos encontra-se na tabela 4.1 a seguir (SILVERSTEIN et al., 2005).

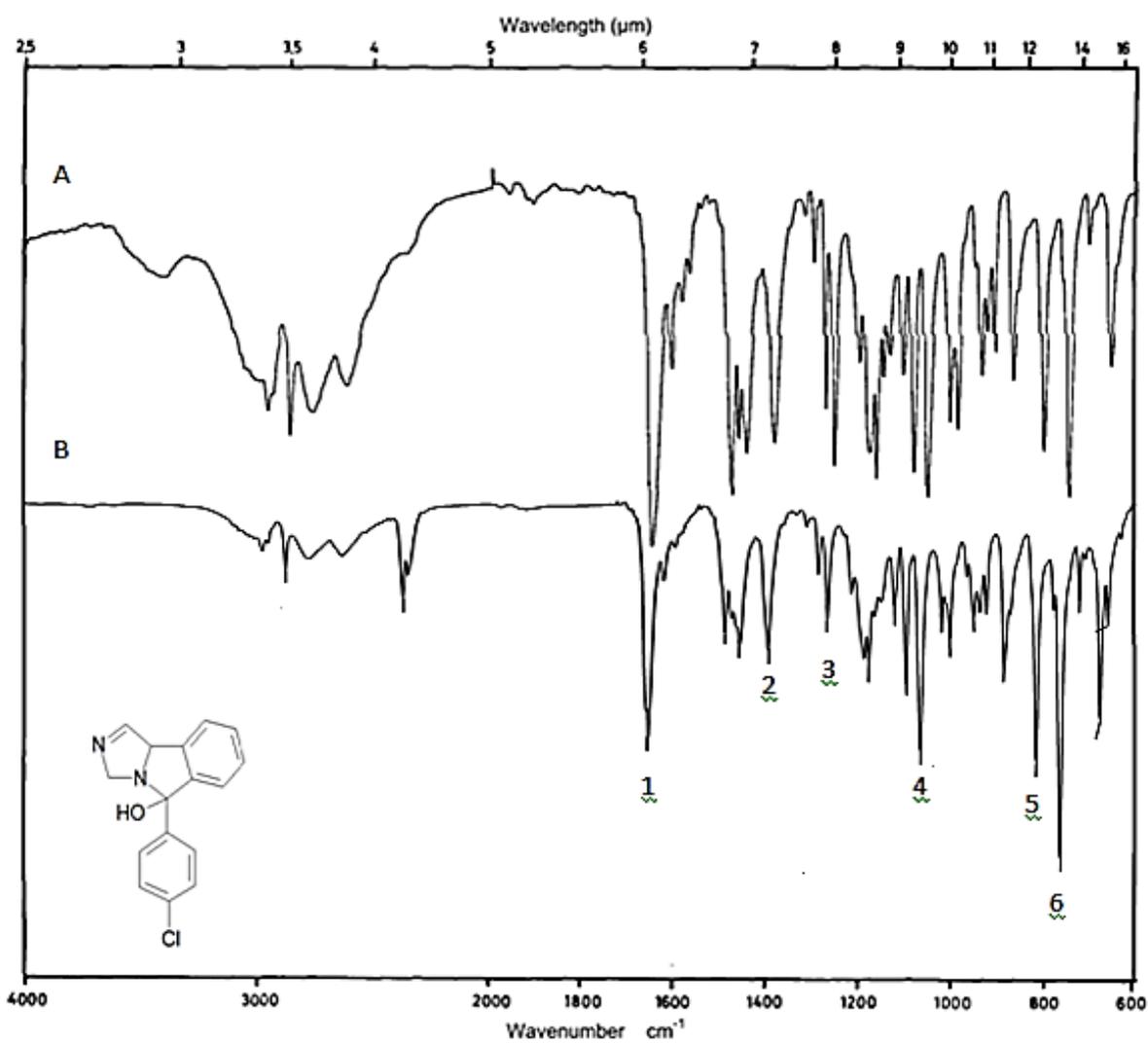


Figura 4.2- Espectros na região do IV obtidos da literatura (DIBBERN et al., 2002) (A) e de forma experimental (B)

Tabela 4.1- Frequências de absorção das principais bandas do espectro de IV do mazindol SQR (SILVERSTEIN et al., 2005).

Banda	Frequência (cm⁻¹)	Atribuições
1	1651	Vibração de deformação axial de C=C de anel benzênico
2	1392 a 1485	Vibração de deformação axial de C=C de anel benzênico
3	1264	Vibração de deformação axial de C-N de amina cíclica
4	1064	Vibração de deformação axial de C-O de álcool terciário
5	~800	Vibração de deformação axial de C-H de anel aromático para-substituído
6	~750	Vibração de deformação axial de C-H de anel aromático orto-substituído

O espectro obtido para mazindol SQR apresenta bandas de absorção características dos principais grupamentos apresentados na estrutura química da molécula. Ademais, os espectros obtidos experimentalmente e da literatura coincidem, permitindo a confirmação da identidade do mazindol SQR.

4.2.3 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A CLAE é uma das técnicas mais usadas para a quantificação de fármacos e medicamentos na rotina de controle de qualidade; entretanto, também é empregada para fins qualitativos (WATSON, 2005; KAZAKEVICH & LOBRUTTO, 2007). A separação é realizada de acordo com polaridade da fase móvel e afinidade do analito pela fase estacionária. Assim, substâncias idênticas quando analisadas sob as mesmas condições cromatográficas, apresentam mesmos tempos de retenção (WATSON, 2005).

As análises de CLAE foram realizadas em cromatógrafo a líquido Shimadzu LC System, constituído de bomba (LC-10 AD_{VP}), detector de arranjo de diodos (DAD, SPD-M 10A_{VP}), controlador do sistema (SCL-10A_{VP}) e injetor manual Rheodyne 7725i com alça dosadora de 20 µL. As condições cromatográficas estão apresentadas na tabela 4.2 e os resultados na figura 4.3.

Tabela 4.2 – Condições cromatográficas empregadas na identificação do mazindol SQR por CLAE.

Parâmetro	Condição utilizada
Coluna	MN® C 18 (150 x 4,6 mm, 5 µm,)
Fase móvel	água: trietilamina (pH 3,5) : acetonitrila (69,7:0,3:30 v/v/v)
Diluyente	Metanol
Fluxo	1 mL/min
Detecção	Detector de arranjo de fotodiodos em 269nm

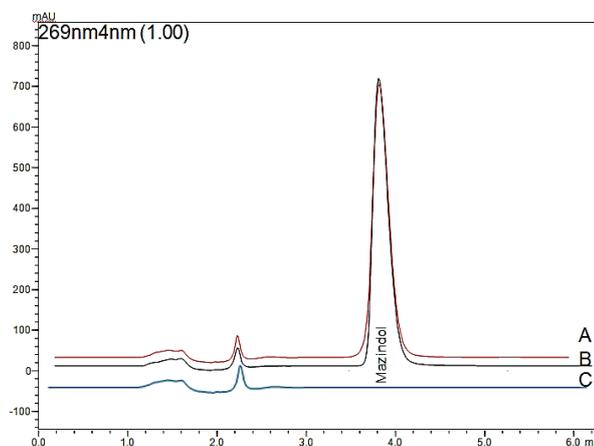


Figura 4.3 – Cromatogramas das soluções da SQR (A) e dos comprimidos de mazindol (Fagolipo® 2mg) após extração dos excipientes por filtração (B) na concentração de 200 µg/mL e branco (C). Condições cromatográficas: coluna MN C 18 (150 x 4,6 mm, 5 µm); fase móvel: água: trietilamina (pH 3,5) : acetonitrila (69,7:0,3:30 v/v/v); volume injetado : 20 µL.

As semelhanças entre os tempos de retenção da SQR e do produto acabado (3,8 min) com pureza do pico de mais de 99%, permitiram identificar o mazindol na SQR com ausência de impurezas que poderiam co-eluir com a amostra, inferindo a adequabilidade da SQR para ensaios de identificação e quantificação do mazindol nas amostras.

4.2.4 Espectroscopia na região do UV

A espectroscopia na região do UV se fundamenta na absorção de radiação eletromagnética na faixa de comprimento de onda de 190 a 380nm (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Esta técnica constitui uma importante ferramenta na caracterização e no doseamento de fármacos e medicamentos por ser de fácil execução, barata e robusta; entretanto apresenta algumas desvantagens como a dependência da presença de grupamentos cromóforos no analito (WATSON, 2005).

Os espectros de ultravioleta do mazindol foram determinados em soluções metanólicas de concentração 200 µg/mL de mazindol SQR e comprimidos em cromatógrafo a líquido Shimadzu com detecção de arranjos de diodos (DAD) nas mesmas condições cromatográficas apresentadas na identificação por CLAE. Com o objetivo de comparar os resultados experimentais, buscou-se um espectro para servir de referência na literatura (DIBBERN et al., 2002). Os resultados estão expressos na figura 4.4.

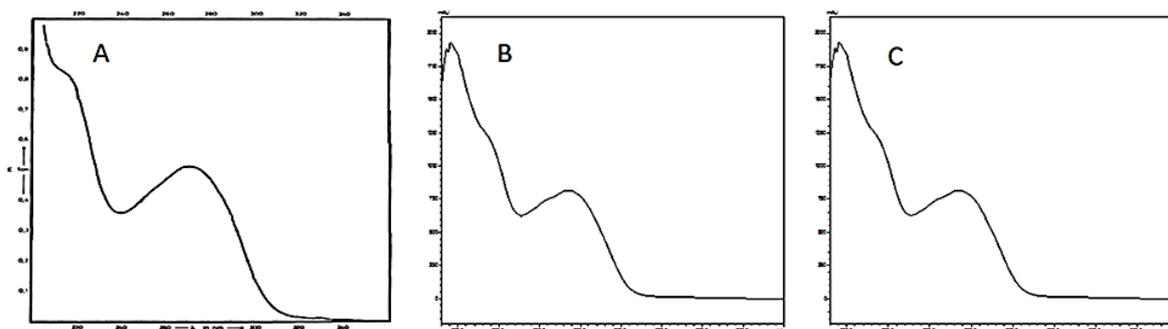


Figura 4.4 – Espectros de UV obtido da literatura (A) e das soluções de mazindol na concentração de 200 µg/mL da SQR (B) e dos comprimidos (Fagolipo® 2mg) (C).

Analisando os espectros A, B e C, é possível inferir que a identificação do mazindol SQR foi positiva, visto que o espectro B se assemelha bastante com o da literatura (A) e com o da formulação farmacêutica (C), apresentando os mesmos comprimentos de onda de máxima absorção (269 nm).

4.2.5 Espectrometria de massas (EM)

A espectrometria de massas é uma técnica capaz de oferecer dados da estrutura química a ser analisada, sem a necessidade de uma separação cromatográfica. Quando acoplada à cromatografia, a espectrometria de massas oferece alta sensibilidade nas análises quantitativas, possuindo boa aplicabilidade em análises ambientais e toxicológicas (KAZAKEVICH e LOBRUTTO, 2007). A identificação do mazindol SQR por EM foi realizada por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CLAE/EM), pois o equipamento disponibilizado não permite a análise por injeção direta da amostra. Assim, foi empregado um cromatógrafo a líquido Agilent 6120 acoplado a um espectrômetro de massas com fonte de ionização por eletrospray positivo (ESI⁺). As análises

qualitativas foram efetuadas no modo SCAN, no qual os íons analisados estavam na faixa 50 a 400. As condições cromatográficas e os parâmetros da EM se encontram nas tabelas 4.3 e 4.4, respectivamente. O espectro de varredura do mazindol e a elucidação dos fragmentos mais abundantes são apresentados nas figuras 4.5 e 4.6, respectivamente.

Tabela 4.3 – Condições cromatográficas empregadas na identificação do mazindol SQR por CLAE/EM.

Parâmetro	Condição utilizada
Coluna	MN® C 18 (150 x 4,6 mm, 5 µm,)
Fase móvel	Água (ajustado com ácido acético pH 4): metanol: acetonitrila (60:25:15, v/v/v)
Diluyente	Metanol
Vol. de injeção	10 µL
Fluxo	1 mL/min

Tabela 4.4 – Parâmetros do espectrômetro de massas empregados na análise de caracterização do mazindol SQR por CLAE/EM.

Parâmetro	Condição utilizada
Pressão de nebulização	55 psi
Fluxo de secagem do gás	12 L/min
Temperatura de secagem do gás	350 °C
Voltagem do capilar	4000 V

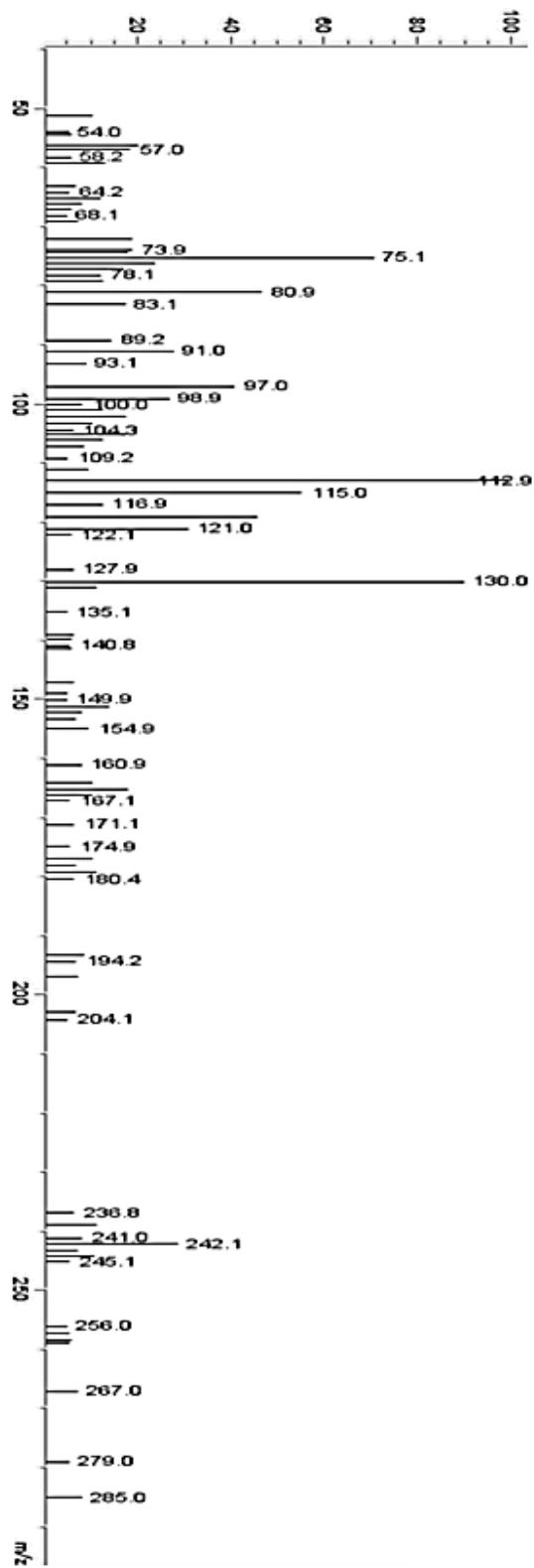


Figura 4.5 – Espectro de varredura (SCAN) do mazindol SQR

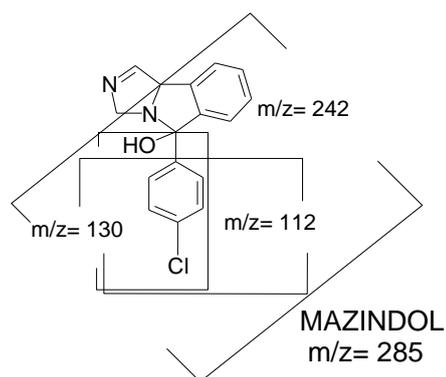


Figura 4.6 – Elucidação dos fragmentos mais abundantes do mazindol SQR gerados a partir da análise por CLAE/EM em modo ESI⁺.

A análise dos fragmentos resultantes do ensaio de identificação do mazindol SQR por CLAE/EM confirma a identidade da amostra, pois além do aparecimento do íon molecular protonado (285), outros fragmentos puderam ser associados com a estrutura.

4.3 CONCLUSÕES

Segundo as análises de caracterização do mazindol SQR por espectrometria nas regiões do IV e do UV, CLAE, e EM, bem como a comparação dos resultados com dados existentes na literatura, foi possível confirmar a identidade da amostra, permitindo o emprego da SQR para estudos posteriores. O ensaio por DSC apenas demonstra pureza da amostra, sendo pouco conclusivo para fins de identificação em razão da divergência dos dados presentes na literatura.

4.4 REFERÊNCIAS

BRASIL. Portaria n.º 344, de 12 de maio de 1998. **Regulamento técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial**. Brasília, 12 de maio de 1998.

CLARKE'S. **Analysis of Drugs and poisons in pharmaceutical body fluids and Material**. 3. ed., v. 1, Londres, 2004.

CLAS, S. D; DALTON, C. D; HANCOCK. Differential scanning calorimetry: applications in drug development. **Pharmaceutical science technology today**. v. 2 (8), p. 311-320, 1999.

DIBBERN, H. W; MÜLLER, R. M; WIRBITZKI, E. **UV and IR spectra**. Aulendorf, 2002.

FARMACOPEIA BRASILEIRA, 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2010.

FDA, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION, **Guidance for industry - bioanalytical method validation**, FDA, 2001.

KAZAKEVICH, Y; LOBRUTTO, R. **HPLC for pharmaceutical scientists**. 1.ed. New Jersey: Wiley, 2007.

MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. **Análise Térmica de Materiais**. 1. ed. São Paulo: SP, 2002.

SIGMA – ALDRICH. **Material safety data sheet**. Version 3.0. Saint Louis, 2011.

SILVERSTEIN, R. M; WEBSTER, F. X; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. 7 ed. New York: John Wiley & Sons, 2005.

STUART, B. **Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications**. 1. ed. Sydney: John Wiley & Sons, 2004.

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

THE MERCK INDEX. **An encyclopedia of chemicals, drugs and biological**. Version 12.3. New Jersey: Merck & Co. Inc, 2000.

WATSON, D. **Pharmaceutical Analysis. A text book for pharmacy students and pharmaceutical chemists**. 2. ed. Edimburgh: Eselvier Churchill Livingstone, 2005.

5. CAPÍTULO II- Publicação Científica

Determination of mazindol in human oral fluid by high performance liquid chromatography– electrospray ionization mass spectrometry- Publicado na revista Biomedical Chromatography- DOI 10.1002/bmc.3120

As seguintes páginas (69-73) foram suprimidas por correspondem ao manuscrito publicado no periódico Biomedical Chromatography- DOI 10.1002/bmc.3120. Este capítulo aborda o desenvolvimento, validação e aplicação de metodologia analítica por CLAE-EM para determinação quantitativa do mazindol em fluido oral de humanos, até então, inexistente na literatura. O método demonstrou-se linear na faixa de concentração de 0.2 a 20 ng/mL, preciso, exato e capaz de discriminar o analito do seu principal produto de degradação em um tempo de análise de 10 min. Ademais, foi demonstrada a importância da utilização de tamponamento ácido das amostras afim de garantir estabilidade das mesmas. O método desenvolvido e validado se mostrou adequado para fins de monitoramento do uso do fármaco por voluntários através de amostras de fluido oral, matrix que apresenta diversas vantagens frente às convencionais.

6. CAPÍTULO III

**Publicação científica submetida ao periódico J. of Chromatography B
Validation and application of a liquid chromatography– electrospray ionization
mass spectrometric method for determination of mazindol in human plasma
and urine**

As seguintes páginas (77-94) foram suprimidas por correspondem ao manuscrito submetido ao periódico Journal of Chromatography B. Este capítulo aborda o desenvolvimento, validação e aplicação de metodologias analíticas por CLAE-EM para determinação quantitativa do mazindol em plasma e urina de humanos de acordo com o Guia de Validação Europeu (EMA) Os métodos demonstraram-se lineares na faixa de 0.1-10 ng/mL ($r= 0.9982$) para plasma e 5-50 ng/mL ($r=0.9973$) para urina em um tempo de análise de 6.5 min empregando líquido-líquido como método de extração. Os métodos demonstraram serem sensíveis, precisos, exatos e as amostras demonstraram possuir estabilidade frente às condições de análise e armazenamento. Também, foi demonstrada a adequabilidade dos métodos para monitoramento do mazindol em plasma e urina de motoristas que fizeram o uso do fármaco.

6. CAPÍTULO IV

Publicação científica a ser submetida ao periódico Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Estudo da farmacocinética do mazindol em plasma, fluido oral e urina de voluntários

As seguintes páginas (97-114) foram suprimidas por correspondem ao manuscrito a ser submetido ao periódico Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. Este capítulo teve como objetivo estudar, de forma preliminar, a farmacocinética do mazindol em plasma e em fluido oral, bem como, investigar a correlação dos níveis do fármaco em urina, plasma e fluido oral. Amostras de sangue, urina e fluido oral foram coletadas nos tempos 0, 1, 2, 4, 5, 6, 8, 10 e 24 h após a administração de comprimidos de 2 mg de mazindol e analisadas por um método previamente validado por LC-MS com extração líquido-líquido. Os níveis encontrados do fármaco foram maiores em plasma quando comparados com os de fluido oral e maiores em urina em relação ao plasma. O estudo da farmacocinética do mazindol demonstrou que o modelo mais adequado para descrever a variação da concentração ao longo do tempo é o modelo aberto de um compartimento com absorção e eliminação seguindo a cinética de primeira ordem e, confirmando dados da literatura, o fármaco sofre metabolização, sendo que o principal metabólito foi detectado, mas não foram quantificado. Não foi encontrada uma boa correlação entre as concentrações do mazindol em urina e plasma, mas sim, entre plasma e fluido oral, propondo esta como uma matriz alternativa ao plasma. Entretanto, são necessários estudos envolvendo mais indivíduos.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A necessidade da busca pelo estado de alerta durante os longos períodos de jornada de trabalho faz com que motoristas profissionais utilizem substâncias psicoestimulantes, aumentando o risco da ocorrência de acidentes de trânsito, sendo de grande relevância o monitoramento dessas substâncias.

O fluido oral é uma matriz biológica que apresenta uma série de vantagens frente a outras matrizes por proporcionar uma coleta fácil e não invasiva não requerendo treinamento especializado para a coleta, ser de difícil adulteração, e em muitos casos possuir boa correlação com níveis plasmáticos.

As análises toxicológicas exigem metodologias de sensibilidade adequada e substâncias químicas referências de qualidade. No presente trabalho, optou-se por utilizar um padrão não-compendial, sendo recomendável sua caracterização a fim de se garantir confiabilidade às análises. Para tal, os seguintes ensaios foram realizados: calorimetria exploratória diferencial (DSC), ponto de fusão, espectrometria nas regiões do infravermelho e do ultravioleta, cromatografia líquida com detecção no ultravioleta e espectrometria de massas. Com exceção do DSC e do ponto de fusão, considerados pouco conclusivos em função da divergência entre os valores existentes na literatura, todos os outros ensaios permitiram a caracterização do mazindol SQR.

Metodologias para determinação do mazindol em fluido oral, plasma e urina foram desenvolvidas e validadas por CLAE-EM com extração com solvente orgânico de acordo com o guia de validação Europeu (EMA). Os métodos foram considerados lineares, precisos, exatos, específicos e seletivos, sendo capazes de discriminar o fármaco de estudo do seu principal metabólito. Além disso, foi demonstrada a estabilidade das soluções de trabalho e das amostras quando submetidas às condições de análise e quando mantidas a -20°C por pelo menos um mês.

Após as validações das metodologias analíticas desenvolvidas, as mesmas se demonstraram adequadas para um estudo de farmacocinética do mazindol em

sete voluntários saudáveis que administraram por via oral a especialidade farmacêutica comprimidos de 2 mg do fármaco. Cabe ressaltar, também, que o presente estudo foi previamente aprovado pelo comitê de ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (anexo 1).

Posteriormente à administração de mazindol comprimidos, o fármaco pôde ser monitorado por um período de 24 horas, sendo inicialmente detectado no plasma e na urina a partir de 1h e no fluido oral a partir de 2h e as concentrações encontradas foram muito superiores na urina e bastante inferiores em fluido oral, quando comparadas ao plasma. Ademais, foi encontrada uma correlação positiva entre os níveis do mazindol em plasma e fluido oral, sugerindo essa matriz como alternativa ao plasma.

Considerando as dificuldades em se obter parâmetros farmacocinéticos a partir de dados urinários, e levando em consideração os objetivos do presente trabalho, buscou-se avaliar as vantagens da urina para fins de monitoramento do uso do mazindol por motoristas, já que sua presença na urina demonstra que a substância foi utilizada, o que é considerado um ato ilícito. Conforme observado, foi encontrada uma concentração em média 178 vezes maior na urina que em plasma ao final de 24 horas, mostrando que o fármaco pode ser monitorado por um período ainda maior.

Analisando estudos presentes na literatura, percebe-se a ausência de estudos avaliando o perfil de concentração versus tempo do mazindol em fluido oral e em urina, assim, os dados gerados no presente trabalho contribuem para o entendimento do comportamento do fármaco no organismo. No entanto, faz-se necessária a realização de estudos farmacocinéticos mais amplos, envolvendo um número maior de voluntários, principalmente em função da variabilidade interindividual.

8. ANEXOS

ANEXO 1



**HCPA - HOSPITAL DE CLÍNICAS DE PORTO ALEGRE
GRUPO DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO**

COMISSÃO CIENTÍFICA E COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

A Comissão Científica e o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (CEP/HCPA), que é reconhecido pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)/MS e pelo Office For Human Research Protections (OHRP)/USDHHS, como Institutional Review Board (IRB00000921) analisaram o projeto:

Projeto: 110270

Data da Versão do Projeto: 26/08/2011

Data da Versão do TCLE: 26/08/2011

Pesquisadores:

MARCELLA HERBSTTRITH DE OLIVEIRA

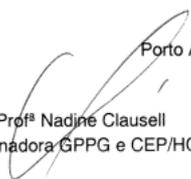
FLAVIO PECHANSKY

Título: Avaliação da farmacocinética do mazindol em plasma, saliva e urina e validação de metodologias analíticas

Este projeto foi APROVADO em seus aspectos éticos e metodológicos, bem como o respectivo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de acordo com as diretrizes e normas nacionais e internacionais de pesquisa clínica, especialmente as Resoluções 196/96 e complementares do Conselho Nacional de Saúde.

- Os membros da Comissão Científica e do Comitê de Ética em Pesquisa não participaram do processo de avaliação dos projetos nos quais constam como pesquisadores.
- Toda e qualquer alteração do projeto, assim como os eventos adversos graves, deverão ser comunicados imediatamente ao CEP/HCPA.
- O pesquisador deverá apresentar relatórios semestrais de acompanhamento e relatório final ao CEP/HCPA.
- Somente poderá ser utilizado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido no qual conste o carimbo de aprovação do CEP/HCPA.

Porto Alegre, 07 de novembro de 2011.


Profª Nadine Clausell
Coordenadora GPPG e CEP/HCPA

ANEXO 2

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Você está sendo convidado a participar de um estudo que objetiva avaliar por quanto tempo o mazindol pode ser detectados na saliva, urina e sangue após administração oral de uma única dose (2 mg). Este estudo está inserido no projeto “Avaliação da farmacocinética do mazindol em plasma, saliva e urina e validação de metodologias analíticas” aprovado pela Comissão Científica/Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde do Grupo de Pesquisa e Pós-graduação do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (GPPG/HCPA) sob o número _____, em ____/____/____.

Objetivos: determinar as variações das concentrações salivares, sanguíneas e urinárias de mazindol e seu metabólito com o passar do tempo, após administração única, via oral, deste medicamento; bem como comprovar a efetividade de técnicas analíticas previamente desenvolvidas para a detecção destes medicamentos.

Justificativa:

A saliva constitui uma matriz de grande interesse, pois possui fácil coleta e de forma não invasiva e a correlação entre os níveis de fármaco em sangue e saliva objetiva o monitoramento de fármacos na saliva, refletindo as concentrações encontradas no sangue.

Como será realizado o estudo:

Você deverá comparecer no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) no dia e horários agendados para a realização do estudo. Antes de ingerir o medicamento, você passará por uma anamnese, na qual você responderá um questionário breve, sua pressão será aferida e sua temperatura corpórea medida. Após, você deverá realizar a ingestão de um comprimido de 2 mg de mazindol especialidade farmacêutica aprovada para comercialização no Brasil para o manejo da obesidade e permanecer durante um período de 11 horas no ambulatório do HCPA para o fornecimento das amostras com retornos para coletas após 24 horas 48h do início do estudo. Sob supervisão dos pesquisadores responsáveis, serão coletadas 14 amostras de saliva, 14 de sangue e 14 de urina, em intervalos de tempo pré-estabelecidos num período de 48 horas. As coletas de saliva serão realizadas através de dispositivo de coleta Quantisal®, o qual consiste em um chumaço de algodão preso a uma haste plástica, que é inserido sob a língua por cerca de 5 minutos, período em que são coletados cerca de 1 mL de saliva. Após a coleta o algodão é inserido em solução conservante e congelado. As amostras de urina (cerca de 100 ml) serão coletadas em frasco plástico estéril com tampa rosca e congeladas. As amostras de sangue serão coletadas com dispositivo de coleta a vácuo em tubos próprios para coleta do

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA

VERSÃO APROVADA

07 / 11 / 2011

ME 110270

tipo *vacoutainer* contendo heparina como solução anticoagulante. Serão fornecidos aos voluntários todos os materiais (devidamente identificados) e informações necessários para coleta.

Formas de Ressarcimento das Despesas decorrentes da Participação na Pesquisa: podem ser ressarcidas as despesas com alimentação e transporte relacionadas ao período da coleta.

Desconforto ou Riscos Esperados: Dentre os possíveis efeitos adversos relacionados ao mazindol poderão que, pode-se citar o aparecimento de reação alérgica (dificuldade para respirar, fechamento da glote, inchaço dos lábios, língua ou face ou urticária), batimentos cardíacos irregulares ou pressão sanguínea muito alta (dor de cabeça muito forte, visão borrada), alucinações, comportamento anormal ou confusão, agitação ou tremores, nervosismo ou ansiedade, dor de cabeça ou vertigem, insônia, boca seca diarreia ou constipação, impotência ou alterações da função sexual. Em relação ao uso de uma única e pequena dose (2 mg) de mazindol em indivíduos saudáveis, são baixas as chances da ocorrência de efeitos adversos importantes e que causem risco a saúde, no entanto reações alérgicas podem ocorrer.

Informações: o voluntário tem garantia que receberá respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida quanto aos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa. Também, os pesquisadores assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando do estudo.

Métodos Alternativos Existentes: não há outra metodologia de estudo para a obtenção dos dados requeridos senão a proposta.

Retirada do Consentimento: o voluntário tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo.

Aspectos Regulatórios: elaborados de acordo com as diretrizes e normas regulamentadas de pesquisa envolvendo seres humanos atendendo à Resolução n.º 196, de 10 de outubro de 1996, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério de Saúde – Brasília – DF.

Garantia de Proteção dos Dados dos Voluntários: os pesquisadores asseguram a privacidade dos voluntários quanto aos dados de identificação fornecidos na pesquisa.

Comitê de Ética em Pesquisa
GPPG/HCPA
VERSÃO APROVADA
07 / 11 / 2011
WR 110270

Local e Horário da Realização do Estudo: Ambulatório do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, situado na Rua Ramiro Barcelos, 2.350, Bairro Santa Cecília, Porto Alegre / RS; CEP 90035-903 às 7 horas e 30 minutos do dia estipulado, a ser combinado. As análises de doseamento do medicamento serão realizadas na Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Nome Completo e telefones dos Pesquisadores para contato: Prof. Dr. Flávio Pechansky (051) 33597480; Doutoranda Marcella Herbstrith de Oliveira (051) 3026-2716 ou 9827-9497. Contato com o CEP/HCPA: 3359-8304.

Consentimento Pós-Informação:

Eu, _____, após leitura e compreensão deste termo de informação e consentimento, entendo que minha participação é voluntária, e que posso sair a qualquer momento do estudo, sem prejuízo algum. Confirmando que recebi cópia deste termo de consentimento, e autorizo a execução do trabalho de pesquisa e a divulgação dos dados obtidos neste estudo no meio científico.

* Não assine este termo se ainda tiver alguma dúvida a respeito.

Porto Alegre, ____ de _____ de 20__.

Nome (por extenso): _____

Assinatura: _____

1ª via: Instituição

2ª via: Voluntário

Comitê de Ética em Pesquisa
COPPE/UFPA
VERSÃO APROVADA
07 / 11 / 2011
MR 110270