

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação de
brinzolamida em suspensão oftálmica 1%**

Anelise Miglioranza de Carvalho

Porto Alegre, 25 de novembro de 2011.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação de
brinzolamida em suspensão oftálmica 1%**

Anelise Miglioranza de Carvalho

Trabalho de Conclusão da Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso em
Farmácia

Coorientadora: Letícia Lenz Sfair

Orientador: Prof Dr Martin Steppe

Porto Alegre, 25 de novembro de 2011.

**“O bem que praticares,
em algum lugar, é teu advogado
em toda parte”**

Francisco Cândido Xavier

AGRADECIMENTOS

Ao professor Martin Steppe pela oportunidade da orientação, dedicação, carinho, amizade, incentivo, paciência e pelo exemplo de ética e competência.

À minha coorientadora Letícia Lenz Sfair pela dedicação, paciência, apoio, amizade e ajuda, principalmente, na realização da parte experimental deste trabalho.

Ao pessoal do laboratório 402: Rúbia, Alianise, Vítor, Jaison, Nathalie, Amanda, Fernanda, Bárbara, Gabriela, Márcia, Clésio, Diogo, Alini, Mariana, Camila e Patrícia pelas risadas e conversas que tornaram meus dias no laboratório muito mais agradáveis.

A todos meus amigos, de perto ou de longe, pela compreensão ao longo de todo o curso e apoio, principalmente, nos momentos mais difíceis dessa trajetória.

A minha família e ao Julhor por sempre acreditarem em mim quando, muitas vezes, nem eu mesma acreditava e por todo apoio, força e incentivo, por serem o meu porto seguro em todos os momentos.

Ao meu pai por sempre estar ao meu lado, me apoiando, me incentivando e por sempre acreditar na minha capacidade e investir na minha formação e, principalmente, por ser meu exemplo de vida e de amor.

APRESENTAÇÃO

Os resultados deste trabalho estão apresentados sob a forma de artigo científico. Este contém os seguintes tópicos: Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão e Referências e será submetido à Revista Química Nova estando de acordo com suas normas (anexadas no final do trabalho). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico - Departamento de Produção e Controle de Medicamentos - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

ÍNDICE

1. ARTIGO CIENTÍFICO.....	VIII
2. ANEXO.....	29

1. ARTIGO CIENTÍFICO

Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação de brinzolamida em suspensão oftálmica 1%

Artigo a ser submetido para publicação na Revista Química Nova.

**Desenvolvimento e validação de método analítico para determinação de
brinzolamida em suspensão oftálmica 1%**

Anelise Miglioranza de Carvalho^{1,a*}, Letícia Lenz Sfair^{1,b}, Martin Steppe^{1,c}

¹ Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico, Faculdade de Farmácia,
UFRGS, Av. Ipiranga 2752 Lab. 402, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

^a Acadêmica da Faculdade de Farmácia – UFRGS.

^b Aluna de Doutorado no PPGCF – UFRGS.

^c Professor Associado do Departamento de Produção e Controle de
Medicamentos – UFRGS.

ABSTRACT

Glaucoma is an optic neuropathy caused by multiple factors, characterized by progressive damage to the optic nerve and increased intraocular pressure, its main risk factor. Brinzolamide is a sulfonamide nonbacteriostatic derivative inhibitor of carbonic anhydrase II, which decreases the intraocular pressure by reducing aqueous humor formation. A stability-indicating HPLC method for the determination of brinzolamide in ophthalmic solution was developed and validated. Chromatographic analysis were performed in Phenomenex® C18 column (150x4.6 mm, particle size 5 µm). The mobile phase was composed of acetonitrile and 25 mM monobasic potassium phosphate buffer adjusted to pH 5.8 (40:60; v/v), flow rate of 1.0 mL/min and injection volume of 20 µL. The method was simple, rapid, specific, linear, precise, accurate and robust, suitable for use in routine quality control.

Keywords: brinzolamide, method validation, stability-indicating method

INTRODUÇÃO

O glaucoma é uma neuropatia óptica de causa multifatorial, caracterizada pela lesão progressiva do nervo óptico devido à perda de células ganglionares da retina e seus axônios, o que resulta em mudanças estruturais e *déficit* funcional, sendo o aumento da pressão intra-ocular seu principal fator de risco.¹ O glaucoma é a segunda maior causa de cegueira no mundo, ficando apenas atrás da catarata, porém, é a maior causa de cegueira irreversível. Levantamento feito pela OMS estimam que existam cerca de 4,5 milhões de pessoas cegas devido ao glaucoma primário (sem causa conhecida), representando cerca de 12% de toda cegueira global.² No Brasil, embora não existam estatísticas oficiais, estima-se que 900 mil pessoas sejam portadores de glaucoma, sendo que muitas delas nem sequer suspeitam ter a doença.³

No estágio inicial, o glaucoma afeta a visão periférica, mas, na maioria dos casos, apenas torna-se perceptível ao paciente quando de 30 a 40% das fibras nervosas já foram destruídas.^{1,4,5} Os tipos mais comuns de glaucoma são: glaucoma primário de ângulo aberto e glaucoma primário de ângulo fechado. O glaucoma primário de ângulo aberto é a forma mais comum da doença e possui uma fisiopatologia ainda desconhecida, porém, algumas hipóteses levantadas sobre as possíveis causas da doença são dificuldade na drenagem do humor aquoso pelo olho, isquemia e hipóxia local, estresse oxidativo e formação de radicais livres, entre outros.⁶

A brinzolamida é um derivado de sulfonamida não-bacteriostático, um inibidor altamente específico, não competitivo e reversível da anidrase carbônica II (isoenzima da anidrase carbônica encontrada no epitélio ciliar, nas células da

córnea endotelial e no epitélio pigmetar), que diminui a pressão intraocular por reduzir a produção de humor aquoso.^{1,7,8} A brinzolamida (Figura 1), cuja fórmula empírica é $C_{12}H_{21}N_3O_5S_3$, é um pó branco comercializado na forma farmacêutica de suspensão oftálmica a 1%. No Brasil, apenas um laboratório detém a comercialização da brinzolamida (Azopt® - Alcon). De acordo com estudos de dose e resposta realizados com concentrações na faixa de 0,3% a 3,0%, administrados duas vezes ao dia, foi possível concluir que a concentração ótima da brinzolamida para redução da pressão intraocular é de 1%.⁹

Na literatura pesquisada, após realizar um levantamento das monografias disponíveis nos compêndios oficiais, observou-se que apenas a *United States Pharmacopeia 34* descreve método para doseamento da suspensão oftálmica de brinzolamida. O método descrito utiliza grandes quantidades de tampão (125 mM, 65%), o que pode acarretar na redução da vida útil de colunas e acessórios. Além disso, possui um tempo de análise considerado alto (10 minutos), aumentando os gastos com solventes e acarretando em maiores danos ao meio ambiente, além de utilizar reagentes relativamente tóxicos ao analista (tampão acetato de amônio).¹⁰

A validação é o processo pelo qual deve passar um método analítico para assegurar que ele seja confiável para o objetivo a que se destina.^{10,11} Segundo a ANVISA, “a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados”.¹²

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) indicativo de estabilidade para

determinação da brinzolamida suspensão oftálmica, empregando menor quantidade de tampão na fase móvel e reduzindo o tempo de análise.

PARTE EXPERIMENTAL

1. Materiais

Acetonitrila grau CLAE (Merck), fosfato de potássio monobásico (Synth), solução de hidróxido de sódio 1,0 M (para ajuste do pH) e água purificada obtida por Millipore Milli-Q® UF-Plus (Millipore) foram utilizados para a preparação da fase móvel. Metanol grau CLAE (Merck) foi utilizado para diluição a substância química de referência e da amostra. A amostra de suspensão oftálmica de brinzolamida 1% (Azopt®) e o padrão USP brinzolamida (100%) foram utilizados nas determinações. Os adjuvantes empregados na solução placebo foram cloreto de benzalcônio, manitol, EDTA, cloreto de sódio e carbômero 940.

2. Sistema cromatográfico

O sistema cromatográfico utilizado (Agilent 1200 series, Santa Clara, EUA) equipado com bomba quaternária G1311A, degaseificador G1322A, compartimento termostaticado da coluna G1316A, injetor automático G1329A e detector de arranjo de fotodiodos G1315A no comprimento de onda de 254 nm. As análises cromatográficas foram realizadas em uma coluna Phenomenex® C18 Luna (150mmx4,6mm, tamanho de partícula 5 µm) mantida a temperatura ambiente (25 °C). A fase móvel foi composta por acetonitrila e tampão fosfato de potássio monobásico (25 mM) pH ajustado a 5,8 com hidróxido de sódio 1,0 M (40:60; v/v), fluxo de 1,0 mL/min e o volume de injeção de 20 µL.

3. Preparo do padrão e amostra

A solução estoque de brinzolamida substância química de referência (SQR) (100 µg/mL) foi preparada em metanol, visto que o fármaco é altamente solúvel neste solvente. A solução de 20 µg/mL, foi obtida por diluição da solução estoque na fase móvel. A amostra foi preparada a partir da diluição de 1,0 mL da suspensão oftálmica 1% em, aproximadamente, 50 mL de metanol, em balão volumétrico de 100 mL (100 µg/mL). A seguir a solução foi colocada em banho de ultrassom por 20 minutos, completando-se o volume com mesmo solvente. Alíquota de 2,0 mL foi diluída em balão volumétrico de 20 mL (20 µg/mL). Todas as soluções foram filtradas em membranas de 0,45 µm.

4. Validação do método analítico

A validação do método analítico foi realizada segundo os critérios propostos pela ANVISA (RE n° 899) e USP 34.^{9,11} na categoria I, denominada “Testes quantitativos para a determinação do princípio ativo em produtos farmacêuticos ou matérias-primas”. Portanto, foram avaliados os seguintes parâmetros exigidos pela legislação para o método desenvolvido: linearidade, especificidade, exatidão, precisão e robustez. Detalhes específicos de cada parâmetro estão descritos abaixo:

Especificidade

A análise da interferência da solução placebo e dos estudos de degradação originados a partir do estudo de degradação forçada foi realizada a fim de determinar a especificidade do método. As condições de estresse utilizadas foram: luz, hidrólise ácida, hidrólise alcalina e oxidação. As amostras foram

analisadas contra uma amostra controle preparada na hora. Todas as soluções foram injetadas em duplicata e a pureza de pico foi determinada utilizando as ferramentas do *software* Agilent *ChemStation*.

- Efeito da luz UV-A: 1,5 mL da solução estoque de 100 µg/mL foram colocadas em cubetas de plástico de 1,0 cm e expostas a uma câmara de luz UV (100 x 18 x 17 cm) internamente revestida com espelhos e uma lâmpada de UV-A emitindo radiação a 352 nm. Após os tempos de 15, 30, 60, 120 e 180 minutos, alíquota de 1,0 mL foi transferida para balão volumétrico (BV) de 5 mL, completou-se o volume com fase móvel e a amostra foi filtrada em membrana de 0,45 µm.

- Efeito da luz UV-C: 1,5 mL da solução estoque de 100 µg/mL foram colocadas em cubetas de plástico de 1,0 cm e expostas a uma câmara de UV (100 x 18 x 17 cm) internamente revestida com espelhos e uma lâmpada de UV-C modelo F30W T8 emitindo radiação a 254 nm. Após os tempos de 15, 30, 60, 120 e 180 minutos, alíquota de 1,0 mL foi transferida para BV de 5 mL, completou-se o volume com fase móvel e a amostra foi filtrada em membrana de 0,45 µm.

- Degradação oxidativa: 20 mL da solução estoque de 100 µg/mL foram transferidos para um BV de 50 mL, ao qual foram adicionados 5 mL de peróxido de hidrogênio 30% e o volume foi completado com metanol. Após os tempos de 2, 4 e 6 h, alíquotas de 10 mL foram transferidas para BV de 20 mL e o volume foi completado com fase móvel. As amostras foram filtradas em membrana de 0,45 µm.

- Hidrólise básica: 25 mL da solução estoque (100 µg/mL) foram transferidos para BV de 50 mL e adicionou-se 20 mL de NaOH 2,5 M, completando-se o volume com metanol. Após os tempos de 2, 4 e 6 h, alíquotas

de 10 mL foram transferidas para BV de 25 mL e neutralizadas com HCl 1,0 M. O volume foi completado com fase móvel e as amostras foram filtradas em membrana de 0,45 µm.

- Hidrólise ácida: 25 mL da solução estoque (100 µg/mL) foram transferidos para BV de 50 mL e adicionou-se 20 mL de HCl 2,5 M completando-se o volume com metanol. Após os tempos de 2, 4 e 6 h, alíquotas de 10 mL foram transferidas para BV de 25 mL e neutralizadas com NaOH 1,0 M. O volume foi completado com fase móvel e as amostras foram filtradas em membrana de 0,45 µm.

Linearidade

Alíquotas da solução estoque de brinzolamida (100 µg/mL) foram diluídas com fase móvel para obter as concentrações de 5,0; 10,0; 20,0; 30,0 e 40,0 µg/mL. A linearidade foi avaliada a partir da construção de três curvas padrão tendo como base a faixa de aceitação estabelecida pela RE 899 (80 a 120% da concentração de trabalho - 16 a 24 µg/mL) de forma a avaliar a relação linear entre a concentração do analito e as áreas obtidas.¹¹ A regressão linear foi determinada pelo método dos mínimos quadrados e a validade da curva foi determinada pela análise da variância.

Precisão

A avaliação da precisão do método analítico teve o intuito de analisar o grau de dispersão entre a série de medidas obtidas por um mesmo analista em um mesmo dia (repetibilidade) e entre dias diferentes (precisão inter-dia), para soluções na concentração de trabalho. Alíquotas de 1,0 mL da amostra foram

transferidas para BV de 100 mL, adicionou-se aproximadamente, 50 mL de metanol e a amostra foi colocada no ultrassom por 20 minutos. Após, completou-se o volume com metanol e as amostras foram diluídas à concentração de 20 µg/mL. A precisão intra-dia foi determinada pela análise de seis replicatas em um mesmo dia. A precisão inter-dia foi realizada com base nos resultados de dois dias de análise, totalizando 18 análises e colaboração de uma analista diferente no terceiro dia.

Exatidão

A exatidão do método foi determinada pela recuperação de quantidades conhecidas de substância química de referência de brinzolamida adicionadas às soluções amostra. Alíquotas de 4,0 mL da solução estoque (100 µg/mL) da amostra foram transferidas para BV 20 mL. No preparo da solução padrão de brinzolamida, pesou-se uma quantidade de padrão a fim de obter uma solução estoque na concentração de 100 µg/mL. Alíquotas desta solução estoque de SQR correspondentes a 25, 50 e 75% da concentração de 20 µg/mL foram adicionadas às soluções amostra, cada nível em triplicata, resultando nas concentrações de 5,0; 10,0 e 15,0 µg/mL.

Robustez

A robustez foi avaliada por pequenas variações no valor de pH da fase móvel (pH 5,6 e pH 6,0), na proporção da fase orgânica (38% e 42%) e na temperatura do forno (23°C e 27°C).

RESULTADOS

1. Seleção das condições cromatográficas

Durante o desenvolvimento do método analítico, foram testados diferentes tipos de solventes orgânicos e diferentes concentrações de solução tampão. A escolha da fase móvel mais adequada foi baseada nos parâmetros do pico (simetria e pratos teóricos). Após testar diferentes proporções de fase móvel, a melhor condição cromatográfica com tempo de retenção de 4,1 minutos foi obtida utilizando-se uma coluna Phenomenex® octadecil silano (150mmX4,6mm), fase móvel composta por acetonitrila e tampão fosfato de potássio monobásico 25 mM com pH 5,8 ajustado com NaOH 1,0 M (40:60). A temperatura empregada foi de 25 °C.

2. Especificidade

A avaliação da especificidade foi feita a partir de estudos de degradação forçada e análise da mistura simulada dos excipientes. A solução placebo não interfere na quantificação do fármaco como demonstrado na figura 2A. Quando exposta a luz UV-C (254 nm) por 60 min, foi observada degradação de 25,41% da brinzolamida e houve a formação de picos adicionais como demonstrado na figura 2B. Quando a solução de brinzolamida foi exposta a luz UV-A (352 nm) por 60 min, ocorreu uma degradação de 1,30%, porém sem a formação de picos adicionais como demonstrado na figura 2C.

Na degradação oxidativa também foi observado que, com o aumento do tempo de exposição, a taxa de degradação do fármaco aumentou e picos adicionais foram observados. Após 120 min., a brinzolamida apresentou taxa de degradação de aproximadamente 81,51% bem como a formação de diversos

picos adicionais como pode ser observado na figura 3A. Após 240 min., mais de 90% da brinzolamida já havia sido degradada e um aumento na área dos picos adicionais foi evidenciado.

Na degradação ácida, após 360 min. houve uma degradação de 5,39% e ocorreu a formação de pequenos picos adicionais entre os tempos de 1 min e 1,5 min, como demonstrado na figura 3B. Na degradação básica, somente após a quarta hora foi possível verificar degradação (4,98%) e picos similares aos encontrados na degradação ácida foram observados como demonstrado na figura 3C.

O aumento do tempo de exposição ao agente de degradação resultou em uma redução na área do pico de brinzolamida e no aparecimento de picos adicionais em todos os testes realizados.

3. Linearidade

O método mostrou-se linear na faixa de concentração de 5,0 a 40,0 µg/mL. A inclinação e o intercepto da curva de calibração foram 33,849 e 1,5389, respectivamente, e o coeficiente de correlação foi de 1,0000. A validade do ensaio foi verificada pela análise da variância. De acordo com a ANOVA, há regressão linear significativa ($p < 0,05$) e não há desvio da linearidade ($F_{\text{calc}} = 2,45 < F_{\text{crít}} = 4.53$; $p > 0,05$).

4. Precisão

A precisão do método foi determinada pela repetibilidade (intra-dia) e precisão intermediária (inter-dia) e expressa como desvio padrão relativo (DPR). Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstram a precisão do método

analítico, uma vez que a faixa de concentração de brinzolamida ficou entre 90,0 e 110,0% e os valores de DPR obtidos foram inferiores a 2,0%.¹²

5. Exatidão

A exatidão do método foi determinada pelo método de adição de padrão e o percentual de recuperação médio obtido para cada nível e está demonstrado na Tabela 2. As análises foram realizadas em triplicata para cada nível avaliado (25, 50 e 75%) e a faixa de recuperação obtida foi de 98,0 a 100,4.

6. Robustez

Os resultados obtidos com as modificações no valor de pH da fase móvel, na temperatura da coluna e na proporção de fase orgânica estão expressos na tabela 3.

DISCUSSÃO

O método cromatográfico foi otimizado visando diminuir ou mesmo excluir a quantidade de tampão utilizada na fase móvel e reduzir o tempo de análise em relação aos métodos já existentes. Foram testadas diferentes proporções de metanol-acetato de amônio, metanol-fosfato de sódio, solução de trietilamina-acetonitrila e acetonitrila-fosfato de sódio. Também foram testados diferentes valores de pH da fase aquosa: pH 5,8, quando utilizou-se fosfato de sódio monobásico; pH 3,0, nas fases aquosas com trietilamina; pH 5,2, nas fases aquosas com acetato de amônio, antes da adição de acetonitrila ou metanol. O tempo de retenção observado (4,1 minutos) permitiu uma determinação rápida do

fármaco, o que é importante em análises de rotina em laboratórios de controle de qualidade. O metanol utilizado para diluir as soluções estoque e a fase móvel utilizada para preparar as soluções nas concentrações finais, permitiu a obtenção de valores de simetria e pratos teóricos adequados aos fins analíticos.

Os testes iniciais foram realizados utilizando uma coluna cromatográfica de 25 cm de comprimento, porém visando reduzir o tempo de retenção do fármaco sem comprometimento da análise cromatográfica, optou-se por uma coluna cromatográfica de 15 cm.

Uma ferramenta do *software* que permite verificar a pureza do pico cromatográfico foi utilizada a fim de verificar a pureza do pico da brinzolamida. O pico mostrou-se puro em todos os casos de degradação forçada, confirmando a ausência de substâncias coeluídas no mesmo tempo de retenção.

Para ser específico, um ensaio analítico deve demonstrar que pode separar e quantificar o fármaco de uma mistura do fármaco, produtos de degradação e excipientes. O método mostrou-se específico para a quantificação da brinzolamida, pois nenhum pico adicional formado nas degradações e nenhum componente da solução placebo tiveram o mesmo tempo de retenção do fármaco ou interferiram na determinação do mesmo.

Os valores obtidos com a precisão mostraram que modificações no dia ou no operador não tem influência significativa no resultado da análise, provando assim que a precisão do método está adequada.

A exatidão demonstrou que a quantidade de SQR recuperada está dentro de valores aceitáveis (entre 98,0 e 102,0%), sendo o método considerado exato.

A robustez provou que, apesar das pequenas modificações realizadas nas condições do método analítico, os parâmetros cromatográficos mantiveram-se de

acordo com os valores estabelecidos e os resultados do doseamento continuaram satisfatórios.

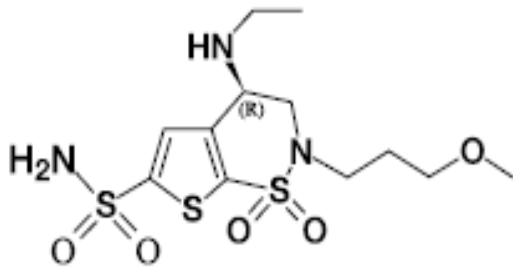
O método de CLAE indicativo de estabilidade para determinação da brinzolamida em solução oftálmica foi desenvolvido e validado. O método mostrou ser simples, rápido, específico, linear, preciso, exato e robusto, sendo adequado para o uso em controle de qualidade de rotina.

REFERÊNCIAS

1. Iester, M., Clin Ophthalmol, 2008, 517-523.
2. <http://www.who.int/en/> acessado em 15/10/2011.
3. <http://www.sboportal.org.br> acessado em 22/10/2011.
4. Pederson, J. E. and D. R. Anderson. Arch Ophthalmol, 1980, 490-495.
5. Zeyen, T. G. and J. Caprioli. Arch Ophthalmol, 1993, 62-65.
6. Martínez, A. G., Terapéutica, 2005, 46-49
7. Sall, K., Surv Ophthalmol 2000, S155-162.
8. Cvetkovic, R. S. and C. M. Perry. Drugs Aging, 2003, 919-947.
9. Silver, L. H., Surv Ophthalmol 2000, S147-153.
10. *The United States Pharmacopeia*, 34nd ed., United States Pharmacopoeial Convention: Rockville, 2011.
11. Ribani M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, C. S. F.; Melo, L. F. C.; *Quim. Nova* 2004, 27, 771.
12. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA; RE nº 899 de 29/05/2003: *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*, Ministério da Saúde: Brasil 2003.

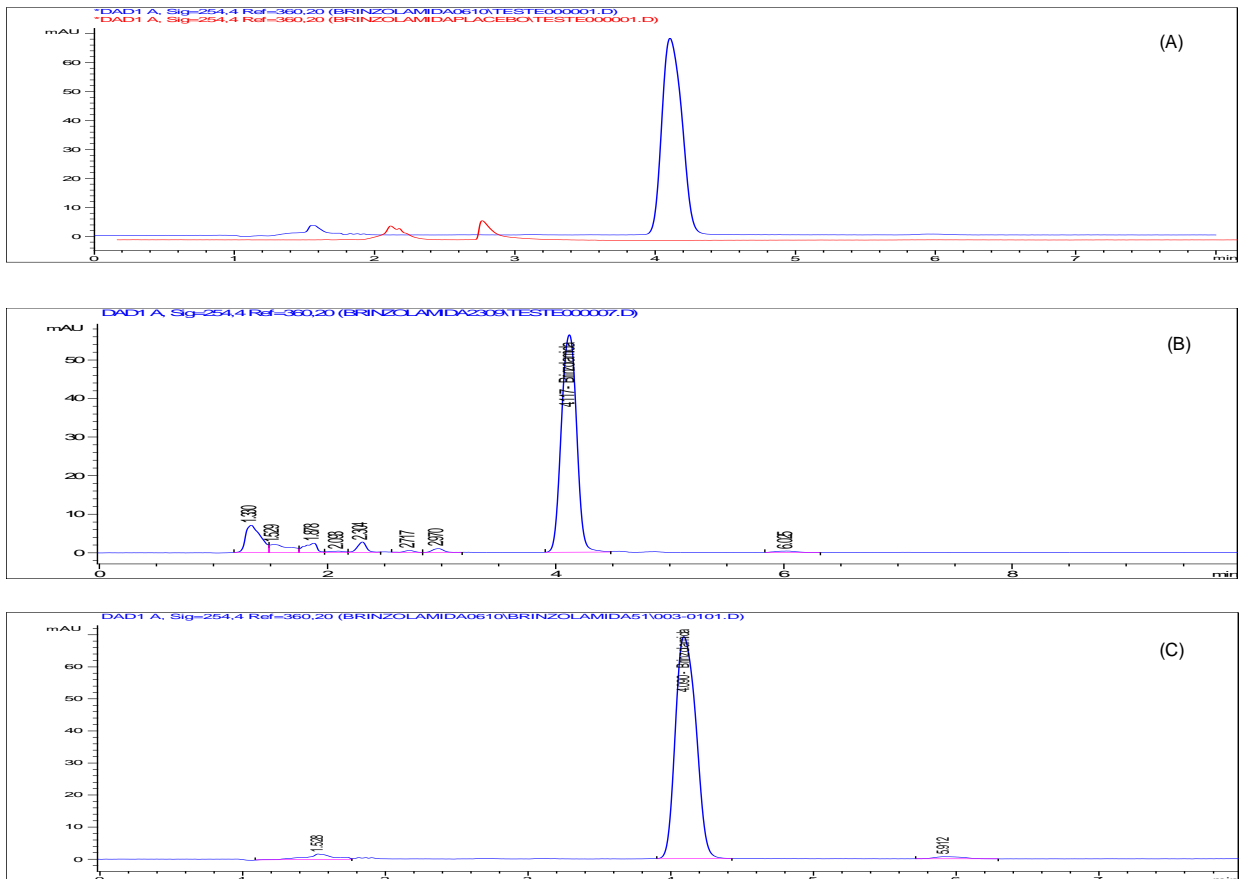
Figuras

Figura 1



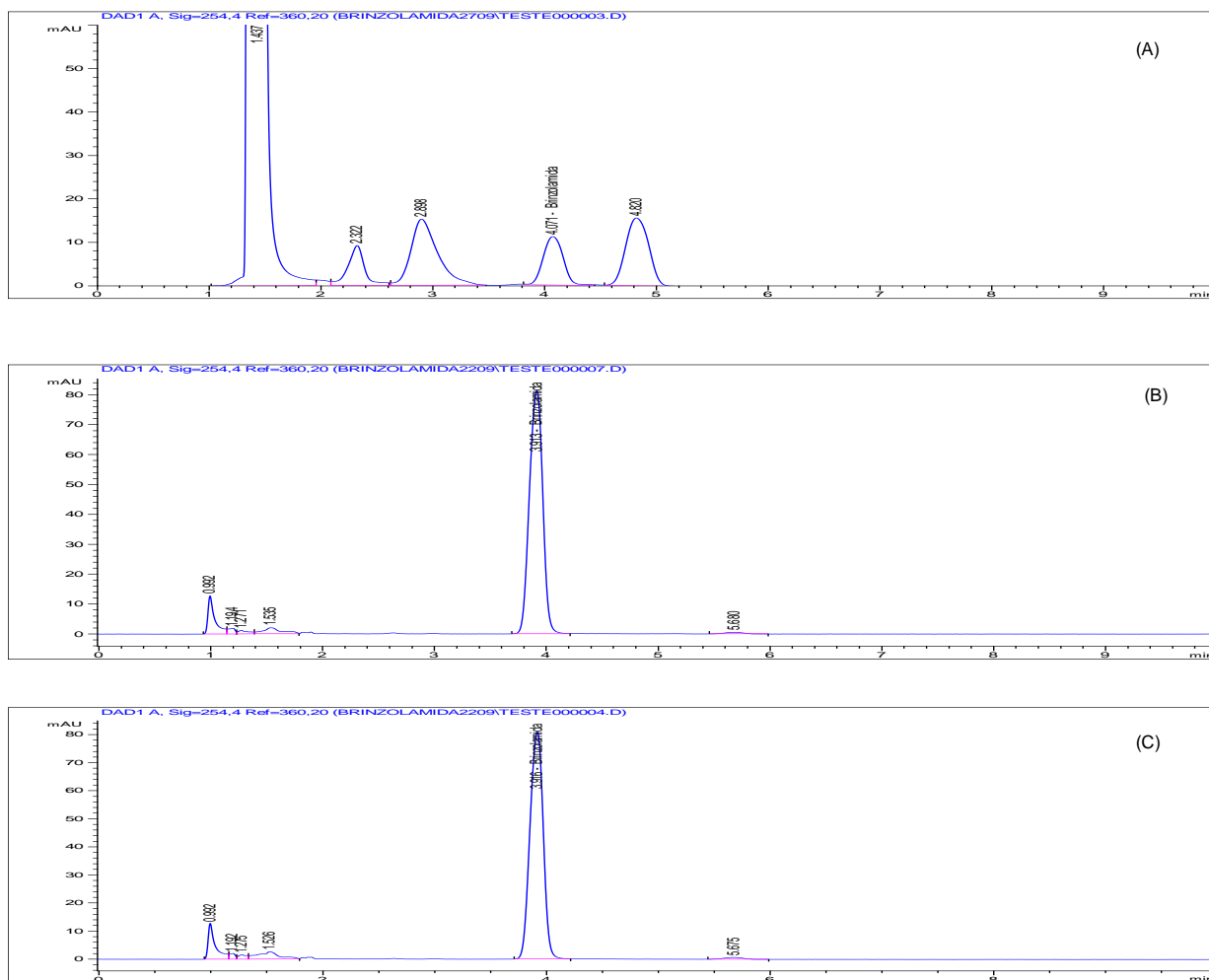
Fórmula estrutural da brinzolamida

Figura 2



Cromatogramas obtidos de brinzolamida: SQR e solução placebo (2A); após degradação na luz UV-C (254 nm / 60 min) (2B) e após degradação na luz UV-A (352 nm / 60 min) (2C).

Figura 3



Cromatogramas obtidos de brinzolamida: após degradação oxidativa – H₂O₂ 3% (3A); após degradação ácida em HCl 1,0 M (3B) e degradação básica em NaOH 1,0 M (3C).

Tabelas

Tabela 1 – Precisão do método analítico por CLAE para determinação da brinzolamida

	Precisão intra-dia (%)	DPR(%)
Dia 1	106,37	0,44
Dia 2	104,27	0,65
Dia 3	102,55	0,32
Precisão inter-dia(%)		
	103,41	1,16

Tabela 2 – Exatidão do método analítico por CLAE para determinação da brinzolamida

Amostra	Quantidade de SQR (mg)		% Recuperação
	Adicionada	Recuperada	
1	5,0	5,02	100,4
2	10,0	9,89	98,90
3	15,0	14,70	98,0

Tabela 3 – Resultados da robustez do método analítico

Variação	Simetria	Pratos Teóricos	Doseamento (%)
Fase móvel proposta (60:40, v/v) Fase aquosa 25 °C pH=5,8	0,72	8320	100
Fase móvel proposta (58:42, v/v) Fase aquosa 25 °C pH=5,8	0,72	8386	99,75
Fase móvel proposta (62:38, v/v) Fase aquosa 25 °C pH=5,8	0,74	8417	99,87
Fase móvel proposta (60:40, v/v) Fase aquosa 27 °C pH=5,8	0,72	8512	99,97
Fase móvel proposta (60:40, v/v) Fase aquosa 23 °C pH=5,8	0,75	8508	99,88
Fase móvel proposta (60:40, v/v) Fase aquosa 25 °C pH=6,0	0,73	8413	99,76
Fase móvel proposta (60:40, v/v) Fase aquosa 25 °C pH=5,6	0,72	8482	99,86

2. ANEXO

Regras para publicação na Revista Química Nova.

Normas de publicação

GERAL - Serão considerados para publicação na Revista Química Nova manuscritos que cubram as áreas tradicionais da Química bem como artigos sobre Ensino de Química, História da Química, Política Científica, etc, além de artigos de áreas afins, desde que tenham acentuado conteúdo químico. Os trabalhos devem se encaixar dentro de uma das modalidades abaixo:

Artigos Originais (em português, inglês ou espanhol): refere-se a trabalhos inéditos de pesquisa. Devem seguir a forma usual de apresentação, contendo Introdução, Resultados e Discussão, Parte Experimental etc, de acordo com as peculiaridades de cada trabalho. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

Artigos de Revisão (em português, inglês ou espanhol): destinados à apresentação do progresso em uma área específica de Química, com o objetivo de dar uma visão crítica do estado da arte do ponto de vista do especialista altamente qualificado e experiente. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

É imprescindível que, na referida área, o autor tenha publicações que comprovem a sua experiência e qualificação. Antes do envio do manuscrito, o autor deverá submeter à editoria, por e-mail, um resumo da revisão pretendida, acompanhado de uma carta explicativa da pertinência do trabalho. O material

será analisado pelos Editores e, uma vez aprovado, será solicitado ao autor o envio do manuscrito completo, dentro das normas de QN, e só então será dado início ao processo de avaliação pelos assessores.

O Corpo Editorial de QN poderá, eventualmente, convidar pesquisadores qualificados para submeter artigo de revisão.

Artigos sobre Educação (em português ou espanhol): trabalhos de pesquisas relacionadas ao ensino de Química e divulgação de experiências inovadoras no ensino de graduação e pós-graduação. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

Notas Técnicas (em português, inglês ou espanhol): trabalhos de comunicação de métodos, validação de métodos, técnicas, aparelhagens ou acessórios desenvolvidos no laboratório de origem do autor do manuscrito. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

Assuntos Gerais (em português, inglês ou espanhol): abordagem de assuntos de interesse geral dos químicos, tais como política científica, programas de graduação e pós-graduação, história da química. etc. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas etc. e todas as páginas deverão ser numeradas.

PREPARAÇÃO DE MANUSCRITOS - Todos os trabalhos deverão ser digitados em espaço duplo, utilizando somente Microsoft Word. A seguir, deve ser gerado um único arquivo no formato *.pdf*, do trabalho todo, para ser submetido

através do sistema *on line de QN*. A revista não aceita mais a submissão de trabalhos por outra forma.

A primeira página deverá conter o título do trabalho, nome e endereço dos autores. Havendo autores com diferentes endereços, estes deverão vir imediatamente após o nome de cada autor. Os autores deverão ser agrupados por endereço. O autor para correspondência, que deverá ser o mesmo que submete o artigo *on line*, deverá ser indicado com asterisco (*) e seu e-mail colocado no rodapé da página (um só e-mail).

A segunda página deverá conter o título e o resumo do trabalho em inglês (abstract), com no máximo 100 (cem) palavras, e a indicação de 3 palavras-chave (keywords), também em inglês.

As figuras (incluindo gráficos, esquemas, etc) deverão ser em número máximo de 7 figuras simples e ter qualidade gráfica adequada (usar somente fundo branco). Para número maior ver o item Material Suplementar. As figuras, tabelas, esquemas, etc deverão ser colocadas após as referências e devidamente identificadas pelo respectivo número. Se escaneadas, deverão ser em alta resolução (*800 dpi/bitmap para traços*).. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente, além de boa qualidade gráfica. Considerar que as figuras deverão ter largura máxima de uma coluna (8,5 cm).

Figuras coloridas terão custo de publicação repassado aos autores, quando da publicação. Esse valor só poderá ser informado aos autores quando o trabalho estiver previsto para ser publicado, ocasião em que a gráfica fornece o orçamento.

Para figuras, gráficos, esquemas, tabelas, etc idênticos aos já publicados anteriormente na literatura, os autores deverão pedir permissão para publicação junto à empresa/sociedade científica que detenha os direitos autorais e enviá-la à editoria de QN junto com a versão final do manuscrito.

As referências deverão ser numeradas consecutivamente no texto, na forma de expoentes, após a pontuação (se houver). A lista de referências deverá ser colocada no final do texto. As legendas das figuras, gráficos e esquemas deverão ser colocadas em uma única folha à parte, separadas das figuras. A seguir, deverão ser colocadas as figuras, os gráficos, os esquemas, as tabelas e os quadros. Colocar os títulos acima de cada tabela. No texto, deverá ser indicada apenas a inserção de cada um(a).

Referências

Revistas:

Será utilizada a abreviatura da revista como definida no Chemical Abstracts Service Source Index (ver <http://www.cas.org/sent.html>). Caso a abreviatura autorizada de uma determinada revista não puder ser localizada e não for óbvio como o título deve ser abreviado, deve-se citar o título completo.

1. Varma, R. S.; Singh, A. P.; *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, 67, 518.

2. No caso especial da revista citada não ser de fácil acesso, é recomendado citar o seu número de Chemical Abstract, como segue:

Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved.; Khim. Khim. Tekhnol.* **1976**, 19, 708. (CA 85:78051s).

3. Caso o trabalho tenha doi, mas não a referência completa, citar doi da seguinte maneira:

Vidotti, M.; Silva, M. R.; Salvador, R. P.; de Torresi, S. I. C.; Dall'Antonia, L. H.; *Electrochimica Acta* (2007), doi:10.1016/j.electacta.2007.11.029.

É recomendado o uso de referências compostas na medida do possível, em lugar de uma lista de referências individuais. O estilo das referências compostas é o seguinte:

4. Varela, H.; Torresi, R. M.; *J. Electrochem. Soc.* **2000**, *147*, 665; Lemos, T. L. G.; Andrade, C. H. S.; Guimarães, A. M.; Wolter-Filho, W.; Braz-Filho, R.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1996**, *7*, 123; Ângelo, A. C. D.; de Souza, A.; Morgon, N. H.; Sambrano, J. R.; *Quim. Nova* **2001**, *24*, 473.

Patentes:

Devem ser identificadas da seguinte forma (na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado entre parênteses).

5. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; *Jpn. Kokai Tokkyo Koho 79 73,771* **1979**. (CA 91:P193174v)

6. Kadin, S.B.; *US pat. 4,730,004* **1988**. (CA 110:P23729y)

7. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T. *Br PI 9.604.468-3*, **1999**.

Livros:

com editor(es):

8. Regitz, M. Em *Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry*; Regitz, M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, cap. 2.

sem editor(es):

9. Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; *Advanced Inorganic Chemistry*, 5th ed., Wiley: New York, 1988.

Programas de computação (Softwares):

10. Sheldrick, G. M.; *SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement*; Universidade de Göttingen, Alemanha, 1993.

Teses:

11. Velandia, J. R.; *Tese de Doutorado*, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.

Material apresentado em Congressos:

12. Ferreira, A. B; Brito, S. L.; *Resumos da 20^a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química*, Poços de Caldas, Brasil, 1998.

Páginas Internet:

<http://www.s bq.org.br/jbcs>, acessada em Junho 2001.

Material não publicado:

Para material aceito para publicação: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, no prelo. Para material submetido mas ainda não aceito: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido. Para trabalho não publicado ou comunicação pessoal: Magalhães, U. H.; trabalho não publicado ou Magalhães, U. H., comunicação pessoal. Os resultados não publicados só poderão ser citados com a permissão explícita das pessoas envolvidas na sua obtenção.

Os autores devem procurar seguir, naquilo que for possível, as normas recomendadas pela IUPAC, inclusive o Sistema Internacional de Unidades. Sobre

a nomenclatura de compostos (orgânicos e inorgânicos) já há traduções para a língua portuguesa publicadas em QN. Quanto aos Símbolos e Terminologias, onde não há tradução, espera-se que adaptação seja feita pelos autores, criando então, paulatinamente, um conjunto de normas em português.

SUBMISSÃO DOS ARTIGOS – A QN oferece aos autores a submissão *on line*, que pode ser acessada através do registro de Login e Senha. É possível registrar-se em nossa home page (<http://quimicanova.sbq.org.br>) usando a opção Novo Usuário. Usuários da plataforma do JBCS, já estão cadastrados na base (pois ela é comum às duas revistas), devendo utilizar o mesmo Login e Senha. Após estar cadastrado no sistema, o autor pode facilmente seguir as instruções fornecidas na tela. Será solicitada a submissão de um único arquivo do manuscrito completo, em formato .pdf. Está disponível uma ferramenta para gerar o arquivo .pdf, a partir de arquivo .doc ou .rtf, com envio automático para o e-mail do autor. Tão logo seja completada a submissão, o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que este seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail com o número de referência do trabalho.

Se não for recebido o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão.

O autor poderá acompanhar, diretamente através do sistema, a situação de seu manuscrito.

Ao fazer a submissão, solicita-se uma carta de apresentação, que deverá ser digitada no local indicado, sendo obrigatória a apresentação dos e-mails de

todos os autores. Além disso, devem ser enviados também os nomes, instituições a que pertencem e e-mails de três ou quatro possíveis assessores, que não podem pertencer à(s) mesma(s) instituição(ões) dos autores.

Material Suplementar – Esta modalidade foi criada para que na versão impressa da revista apareça o número estritamente necessário de figuras e tabelas (6 a 7 figuras simples). Ressalta-se que, como este material ficará disponível apenas na versão *on line*, figuras, tabelas e ilustrações coloridas apresentadas na forma de material suplementar não terão custo repassado aos autores, nem limite de páginas. Porém, devem ter boa qualidade gráfica.

O material suplementar deverá ser colocado no final do trabalho, com indicação clara. Deverá ser submetido um único documento .pdf, incluindo o material suplementar.

Os Editores poderão solicitar aos autores, em qualquer fase da tramitação, a separação de Material Suplementar.

MANUSCRITOS REVISADOS – Manuscritos enviados aos autores para revisão deverão retornar à Editoria dentro de prazo máximo de trinta dias ou serão considerados retirados, sendo que o sistema encerra o processo, não permitindo que seja reaberto. Vencido o prazo, deverá ser feita nova submissão, dando início a um novo processo.

A submissão do manuscrito revisado deverá ser feita pelo mesmo autor, usando o Login e a Senha registrados anteriormente. O autor deve seguir as instruções fornecidas na tela, para envio do documento .pdf completo da versão revisada e das respostas aos assessores, detalhando as alterações feitas na nova versão e justificando as alterações sugeridas nos pareceres e que não foram

aceitas pelos autores. Esses dois arquivos devem ser enviados através da seção Envio de Nova Versão, na Página do Autor, no sistema de submissão *on line* de QN.

Tão logo seja completada a submissão o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que ele seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail contendo o número de referência do trabalho.

Se não receber o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão.

O autor poderá acompanhar, diretamente através do sistema, o status de seu manuscrito.

VERSÃO FINAL – Quando for solicitada a versão final, o autor receberá instruções específicas quanto a programas para envio de arquivos (texto, figuras, tabelas, etc) . Arquivos em formato *.pdf* não são mais solicitados nessa fase.

Se as Figuras forem escaneadas, deverão ser em alta resolução (800 dpi/bitmap para traços) com extensão *tif* ou *jpg*, desde que nas dimensões especificadas pelos Editores. As fotos ou desenhos com cor (300 dpi/grayscale) deverão ser enviadas com extensão *tif/jpg*, com largura máxima total de 8,5 cm para não haver problemas ao aplicá-las no padrão da Revista. Outras extensões possíveis: *cdr*, *eps*, *cdx* ou *opj*. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente.

A Editoria de QN reserva-se o direito de efetuar, quando necessário, pequenas alterações nos manuscritos, de modo a adequá-los às normas da revista ou tornar seu estilo mais claro, respeitando, naturalmente, o conteúdo do trabalho. Qualquer que seja a natureza do manuscrito submetido, ele deve ser original em nível de metodologia, informação, interpretação ou crítica. A qualificação do trabalho será atestada por dois consultores, indicados pela Editoria.

Copyright ©2010 Sociedade Brasileira de Química

Para publicação, requer-se que os manuscritos submetidos a esta revista não tenham sido publicados anteriormente e não sejam submetidos ou publicados simultaneamente em outro periódico. Ao submeter o manuscrito, os autores concordam que o copyright de seu artigo seja transferido à Sociedade Brasileira de Química (SBQ), se e quando o artigo for aceito para publicação. O copyright abrange direitos exclusivos de reprodução e distribuição dos artigos, inclusive separatas, reproduções fotográficas, microfilmes ou quaisquer outras reproduções de natureza similar, inclusive traduções. Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, armazenada em bancos de dados ou transmitida sob qualquer forma ou meio, seja eletrônico, eletrostático, mecânico, por fotocópia, gravação, mídia magnética ou algum outro modo, sem permissão por escrito da detentora do copyright. Embora todo esforço seja feito pela SBQ, Editores e Conselho Editorial para garantir que nenhum dado, opinião ou afirmativa errada ou enganosa apareçam nesta revista, deixa-se claro que o conteúdo dos artigos e propagandas aqui publicados são de responsabilidade, única e exclusiva, dos respectivos

autores e anunciantes envolvidos. Conseqüentemente, a SBQ, o Conselho Editorial, os Editores e respectivos funcionários, diretores e agentes isentam-se, totalmente, de qualquer responsabilidade pelas conseqüências de quaisquer tais dados, opiniões ou afirmativas erradas ou enganosas.