



Caracterização do sulfato de indinavir para a certificação dos fornecedores na produção de medicamentos antirretroviral

Characterization of sulfate indinavir for certification of providers in the production of antirretroviral

Recebido em 07/12/2012

Aceito em 29/06/2012

Rosali Maria Ferreira Silva^{1*}, Fábio Henrique Cavalcanti Oliveira¹, Flávia Patrícia Moraes de Medeiros², Ruth Riesinges Sttratmann³, Larissa Araújo Rolim¹, Ticiano Gomes do Nascimento⁴, Miracy Muniz de Albuquerque⁵ & Pedro José Rolim Neto⁵

¹ Pós-graduandos, Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, LTM, Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

² Pesquisador. Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

³ Pesquisador. Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

⁴ Docente Colaborador. Universidade Federal de Alagoas, Maceió-AL, Brasil

⁵ Docente Orientador. Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, Brasil

RESUMO

A certificação de fornecedores, na indústria farmacêutica, é um pré-requisito para a qualidade do produto final. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a matéria-prima Sulfato de Indinavir, adquiridas de três fornecedores diferentes (A, B e C), realizando as análises de controle de qualidade físico-químicos e avaliando o seu comportamento térmico frente à técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Calorimetria Exploratória Diferencial Fotovisual (DSC-Fotovisual) e Termogravimetria (TG). Dentre os três fornecedores avaliados, somente o fabricante A está qualificado ao fornecimento da matéria-prima dentro dos padrões estabelecidos e preconizados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária para insumos farmacêuticos ativos.

Palavras-chave: Matéria-prima; controle de qualidade; análise térmica

ABSTRACT

The certification of suppliers, industry pharmaceuticals, is a prerequisite for quality final product. The aim of this study was to characterize the raw material of indinavir sulfate, acquired three different suppliers (A, B and C) performing the analysis of quality control and physical-chemical evaluating its thermal front technique Differential Scanning Calorimetry (DSC), Calorimetry Differential Scanning Photovisual (DSC-Photo) and Thermogravimetry (TG). Among the three suppliers tested, only the manufacturer is qualified to supply of raw material within the standards established and recommended by the Agência de Vigilância Sanitária – ANVISA (Brasil) active pharmaceutical ingredients.

Keywords: Raw material; quality control; thermal analysis

INTRODUÇÃO

O sulfato de indinavir é um inibidor da protease no ciclo do vírus da imunodeficiência humana (HIV). Cápsulas de indinavir são formuladas como sal de sulfato e são administradas por via oral nas concentrações de 200 e 400 mg de indinavir (correspondendo a 250 e 500 mg de

sulfato de indinavir, respectivamente). Este medicamento é disponibilizado para atender ao Programa de SIDA (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida) do Ministério da Saúde com custo relativamente elevado (Silva *et al.*, 2007).

* Contato Rosali Maria Ferreira da Silva, Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof. Arthur de Sá, S/N - Cidade Universitária - Recife - PE - Brasil. CEP 50740-521, Tel / Fax: (55-81) 3272-1383, E-mail: rosaliimfs@ibest.com.br

A certificação dos fornecedores é um requisito das Boas Práticas de Fabricação (BPF), por meio da RDC 210, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (Brasil, 2003). A qualidade de um produto começa na aquisição dos insumos e dos materiais de embalagem dentro de suas especificações, em boas condições, nas quantidades certas e dentro do prazo previsto. Uma aquisição bem-sucedida é um pré-requisito para a qualidade do produto final.

O objetivo deste trabalho foi caracterizar a matéria-prima Sulfato de Indinavir, utilizado no tratamento dos pacientes infectados com o HIV, realizando as análises de controle de qualidade físico-químicas, e avaliando o comportamento térmico do Sulfato de Indinavir frente à técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial Fotovisual (DSC-Fotovisual), confirmando os resultados obtidos na Termogravimetria (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), visando a certificação dos fornecedores.

MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo, foram utilizadas como matérias-primas: padrões de trabalho do Sulfato de Indinavir dos Fabricantes A e B; e amostras de Sulfato de Indinavir dos Fabricantes A, B e C.

Controle de Qualidade Físico-Químico

Baseando-se nas metodologias analíticas para matéria-prima, contidas no *Drug Master File* (DMF) dos fabricantes A e B foram realizados os seguintes testes: descrição, solubilidade, identificação, doseamento (por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - CLAE), conteúdo de monoetilsulfato (por Eletroforese por Capilaridade), conteúdo de água (por Karl Fischer), rotação óptica, resíduo por incineração, metais pesados e conteúdo de etanol (por Cromatografia Gasosa) (The United States Pharmacopeia, 2010; Soares *et al.*, 2010; Paula & Sena, 2007).

Na solubilidade, os solventes testados foram água destilada e metanol (Merck®).

A identificação foi realizada por infravermelho, CLAE e uma varredura espectrofotométrica na região UV-VIS e, para estas análises, foram utilizados um Espectrômetro de IVTF Bruker-IFS66 (Fourier Transform-FT®); um Cromatógrafo a Líquido de Alta Eficiência (Shimadzu®) e um Espectrofotômetro UV 2401PC (Shimadzu®) (Presmich, 2009; Marques *et al.*, 2011).

O doseamento foi realizado em CLAE (Shimadzu®), com coluna C8 (Symmetry Waters®), 250 x 4,6 mm, 5 µm; acetoneitrila grau HPLC (Tedia®); fosfato de potássio monobásico (Merck®); fosfato de potássio dibásico (Merck®); sistema de purificação de água (Milli-Q Millipore® Corporation) e sistema de filtração a vácuo (Gast®), segundo metodologia descrita por Silva *et al.*, 2006.

Na determinação do conteúdo de monoetilsulfato, foram utilizados monoetilsulfato (Merck®); 3,5-dinitrobenzóico (Merck®); brometo de cetil trimetilamônio (Aldrich®) e hidróxido de sódio (Merck®) e um sistema de Eletroforese

Capilar (Beckman® P/ACE 5510) (Tavares & Pereira, 2006; Vogel, 2002).

Na determinação do conteúdo de água foram usados metanol seco (Merck®); solução Karl Fischer (Merck®) e um Aparelho Karl Fischer (Quimis®). A rotação óptica foi realizada num Polarímetro (Atago Polax – 2L®).

Na determinação do resíduo por incineração, foi necessário o uso da Mufla (Indústria e Comércio Fornitec Ltda®) e do cadinho de porcelana (Chiarotti Maua M-46®), além do reagente ácido sulfúrico (Merck®).

Para a determinação de metais pesados, utilizaram-se os reagentes ácido nítrico (Merck®); sulfeto de ferro (II) (Vetec Química Representações Ltda®); acetato de amônio (Merck®); ácido clorídrico (Merck®); hidróxido de amônio (Merck®); nitrato de chumbo (Merck®) e ácido acético glacial (Merck®).

Para a determinação do conteúdo de etanol em um Cromatógrafo Gasoso (Shimadzu® GC-17A), foram usados dimetilsulfóxido (Merck®) e etanol (Merck®).

Além destes testes, também foram realizados o estudo de repartição granulométrica em um jogo de tamises (Bertel®) e a análise microscópica para os dois fabricantes.

Na análise microscópica, utilizaram-se filme Asa 100 (Gold Kodak®) com película de 35mm; lâmina 25,4 x 76,2mm (Microscope Slide Ground Edges®); lamínula 32 x 24mm (Assistent®); Microscópio óptico (Zeiss®), com câmara acoplada (MC 80 Axiolab®), com objetiva (achroplan®) 100x / 1,25 oil Ph 3 e oculares E-PI 10x / 20.

Todos os ensaios foram realizados com auxílio da Balança (Mettler® AE 260) e de vidrarias (Pyrex®).

Análise Térmica

As curvas DSC do Sulfato de Indinavir foram obtidas num Calorímetro Exploratório Diferencial Shimadzu®, modelo DSC - 50, acoplado a um sistema Fotovisual com câmera de alta resolução da marca Sanyo®, modelo VCC – D520, conectado a um microscópio da marca Olympus®, numa faixa de temperatura de 25-400°C, utilizando uma panela de alumínio, nas razões de aquecimento 5, 10, 15 e 20°C.min⁻¹. A atmosfera utilizada foi nitrogênio com fluxo de 100 mL.min⁻¹ e a amostra foi de 2,00 mg ± 10% (Aragão *et al.*, 2002; Araújo *et al.*, 2006; Alves, 2007; Klančnik, 2010; Moreira *et al.*, 2010).

A curva TG do Sulfato de Indinavir foi obtida numa “termo balança” Shimadzu®, wmodelo TGA – 50H, num cadinho de alumina, na razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, com faixa de temperatura 25-900°C, sob atmosfera de ar sintético (80% de nitrogênio e 20% de oxigênio) a 20 mL.min⁻¹. A amostra foi de 5,00 mg ± 10% (Giron, 1986; Macêdo *et al.*, 1998; Aragão *et al.*, 1999; Macêdo *et al.*, 2000; Aragão *et al.*, 2001.; Aragão *et al.*, 2002; Aragão *et al.*, 2002; Araújo *et al.*, 2006; Alves, 2007; Costa *et al.*, 2009; Bannacha *et al.*, 2010).

As curvas DSC e TG foram realizadas com o auxílio de um microcomputador. Os padrões A e B e as matérias-primas A, B e C foram adquiridas por três diferentes fabricantes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Controle de Qualidade Físico-Químico

Os resultados das caracterizações das matérias primas dos fornecedores testados estão descritos na tabela 01. Para o fabricante C não foi realizado o controle físico-químico devido à quantidade insuficiente de amostra.

Tabela 1. Controle de qualidade físico-químico do sulfato de indinavir.

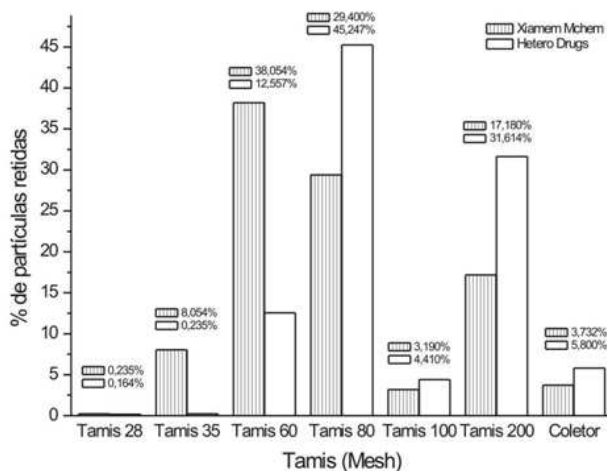
Testes	Especificações	Fabricante A	Fabricante B
Descrição	Pó branco, higroscópico	Pó branco, higroscópico	Pó branco, higroscópico
Solubilidade	Solúvel em água e metanol	Conforme	Conforme
Doseamento	Entre 98,0 e 102,0%	98,78%	99,48%
Conteúdo de água	Não mais que 1,50%	1,73%	1,99%
Rotação óptica	Entre +122,0° e +129,0°	122,55°	125,85°
Resíduo por incineração	Não mais que 0,10%	0,08%	0,13%
Conteúdo de monoetilsulfato	Não mais que 0,05%	0,003%	0,128%
Conteúdo de etanol	Entre 5,0 e 8,0%	6,27%	13,15%
Metais pesados	Não mais que 0,001%	Conforme	Conforme

As amostras dos dois fabricantes foram reprovadas na análise de conteúdo de água, podendo ser justificado devido à umidade relativa no Brasil ser maior que os seus respectivos países de origem.

A amostra do fabricante B foi reprovada nas análises de resíduo por incineração, conteúdo de monoetilsulfato e conteúdo de etanol.

As distribuições granulométricas das matérias primas dos fabricantes A e B apresentam diferentes comportamentos (Figura 1). Acredita-se que estes resultados são devido à matéria prima do fabricante A ser compactada e assim, apresentar maior tamanho de partícula quando comparada com a do fabricante B.

Figura 1. Estudo de granulometria dos Fabricantes A (Hetero Drugs[®]) e B (Xiamen Mchem[®])



Para as amostras dos fabricantes A e B, a identificação foi realizada por infravermelho, cromatografia líquida de alta eficiência e uma varredura espectrofotométrica.

Nas análises de identificação do sulfato de indinavir, o espectro de absorção por infravermelho na amostra finamente pulverizada em pastilha de KBr exibiu o máximo nos mesmos comprimentos de onda que o preparado similar do padrão de trabalho do Sulfato de Indinavir.

Na CLAE, o tempo de retenção do pico principal na preparação da amostra se apresentou em conformidade com o pico do padrão de trabalho do Sulfato de Indinavir na preparação padrão, corroborando com os resultados da varredura espectrofotométrica, com a solução padrão e a solução amostra exibiram o valor máximo de absorbância a 260 nm.

Na análise microscópica, o Sulfato de Indinavir se apresenta na forma amorfa, não havendo diferença entre os padrões de trabalho e as matérias primas dos dois fabricantes.

Análise Térmica

As curvas DSC do Sulfato de Indinavir apresentaram dois picos endotérmicos em diferentes temperaturas de fusão.

As matérias primas A, B e C apresentaram pico de fusão e calor de reação de 147,2°C; -62,0 J/g, 149,3°C; -63,7 J/g e 141,3°C; -54,4 J/g. Os padrões A e B apresentaram 146,2°C; -35,8 J/g e 142,0°C; -21,3 J/g, respectivamente.

Na análise térmica, o padrão B e a matéria prima C apresentaram um grau de hidratação diferente do padrão A e das matérias primas A e B, caracterizando uma solvatação. Devido à presença de sulfato, ocorre formação de dois tipos de solvatos, modificando o ponto de fusão da substância. Esta diferença, nas propriedades físico-químicas, pode ter consequências na solubilidade da droga (Figura 2).

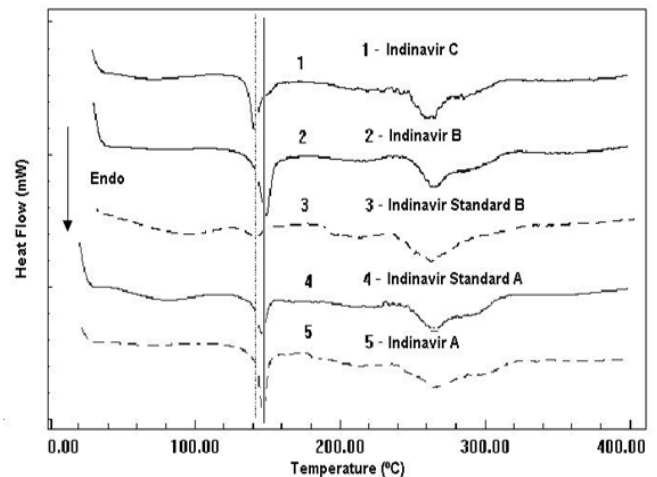


Figura 2. Curvas DSC de padrões e matérias primas para Sulfato de Indinavir.

A linha tracejada e a linha sólida demonstraram as faixas de temperatura de fusão para duas formas pseudopolimórficas do Sulfato de Indinavir.

Os estudos de DSC fotovisual confirmam os dados das curvas de TG e DSC sobre os processos térmicos do Sulfato de Indinavir. O padrão A e as matérias primas A e B exibiram processos térmicos semelhantes (Figura 3),

diferenciando-se do comportamento apresentado pelo padrão B e da matéria prima C (Figura 4).

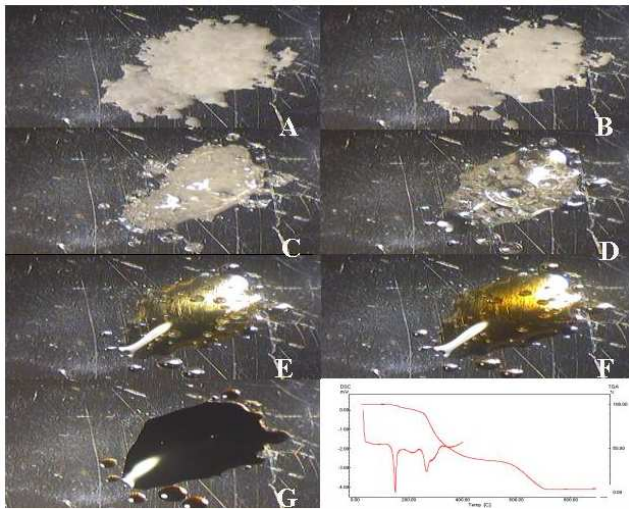


Figura 3. Fotos A (25°C), B (142°C), C (151°C), D (160°C), E (165°C), F (190°C), G (230°C), H (Curvas TG/DSC) da matéria-prima B

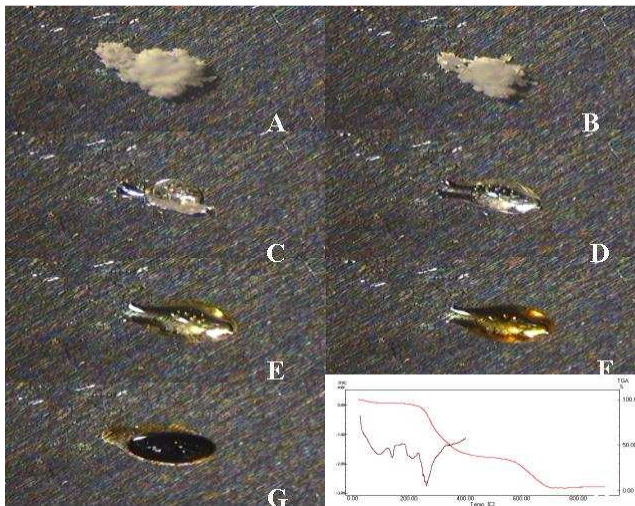


Figura 4. Fotos A (25°C), B (142°C), C (151°C), D (160°C), E (165°C), F (190°C), G (230°C), H (Curvas TG/DSC) do padrão B

No estudo de Análise Térmica, as matérias primas analisadas para o Sulfato de Indinavir atendem à qualidade requerida, estando aptas a continuarem os estudos para serem certificadas. Como a amostra do fabricante B foi reprovada nas análises de resíduo por incineração, conteúdo de monoetilsulfato e conteúdo de etanol, optou-se por escolher a amostra do fabricante A para dar continuidade ao estudo da obtenção tecnológica da forma farmacêutica cápsula de Sulfato de Indinavir, na categoria de medicamento genérico produzido na rede de laboratórios públicos de produção de medicamentos no Brasil.

Neste trabalho pode-se concluir portanto, que dentre os três fornecedores avaliados, somente o fabricante A está qualificado ao fornecimento da matéria prima dentro dos padrões estabelecidos e preconizados pela Agência Nacio-

nal de Vigilância Sanitária para insumos farmacêuticos ativos.

CONCLUSÃO

As diversas matérias-primas de sulfato de indinavir foram analisadas por técnicas que permitem a sua caracterização, sendo a análise térmica por DSC uma importante ferramenta no desenvolvimento e controle de qualidade de fármacos. As especificações analisadas podem ser indicadas para inclusão na monografia de sulfato de indinavir matéria-prima como sugestão para a próxima edição da Farmacopéia Brasileira, visto que com base nos resultados obtidos foi possível qualificar diferentes fornecedores de sulfato de indinavir.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Fundação de Amparo a Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro, bem como ao Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos, da Universidade Federal de Pernambuco, pela parceria na realização das análises físico-químicas.

REFERÊNCIAS

- Alves, R. *Estudo termoanalítico e de compatibilidade fármaco- excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose*. 2007. São Paulo. 90 p. Dissertação (Mestrado em Fármacos e Medicamentos), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.
- Aragão, C.F.S, Macêdo, R.O., Nascimento, T.G., Macêdo, A.M.C. Application of thermogravimetry in the quality control of chloranfenicol tablets. *J. Therm. Anal. Cal.* 56: 1323-1327, 1999.
- Aragão, C. F. S., Macêdo, R. O., Barbosa-Filho, J. M. Thermal characterization of warifetine by means of TG and a DSC photo
- visual. *J. Therm. Anal. Cal.* 64: 185-191, 2001.
- Aragão, C.F.S., Lima, C.S.A., Amorin, E.L.C., Aquino, T.M., Macêdo, R. O. Thermal behavior of biflorin by beans TG and a DSC photovisual system. *Rev. Bras. Farmacogn.* 12:110-111, 2002.
- Aragão, C.F.S., Souza, F.S., Barros, A.C.S., Veras, J.W.E., Barbosa-Filho, J.M., Macedo, R.O. Aplicação da termogravimetria (TG) no controle de qualidade da milona (*Cissampelos sympodialis* Eichl.). *Rev. Bras. Farmacogn.* 12:60-61, 2002.
- Araújo, A.A.S., Mercuri, L.P., Seixas, S.R.S., Storpirtis, S., Matos, J.R. Determinação dos teores de umidade e cinza de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. *Braz. J. Pharm. Sci.* 42(2): 269-277, 2006.
- Bannacha, G., Cervinia, P., Cavalheiroa, E.T.G., Ionashirob, M. Using thermal and spectroscopic data to investigate the thermal behavior of epinephrine.

- Thermochimica Acta* 499: 123–127, 2010.
- Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) n° 210, de 04 de agosto de 2003.
- Costa, R.S., Ozela, E.F., Barbosa, W.L.R., Pereira, N.L., Silva Júnior, J.O.C. Caracterização física, química e físico-química do extrato seco por nebulização (*spray-drying*) de *Cynara scolymus* L. (Asteraceae). *Rev. Bras. Farm.*, 90(3): 169-174, 2009.
- Giron, D. Applications of Thermal Analysis in the Pharmaceutical Industry. *J. Pharm. & Biomed. Anal.* 4(6): 755 – 770, 1986.
- Klančnik, G, Medved, J., Mrvar, P. Differential thermal analysis (DTA) and differential scanning calorimetry (DSC) as a method of material investigation. *RMZ – Materials and Geoenvironment.* 57(1): 127–142, 2010.
- Macêdo, R. O., Aragão, C. F. S., Do-Nascimento, T. G., Medeiros, A. C. D. *Revista Brasileira de Alimentos.* 06: 5-11, 1998.
- Macêdo, R. O., Aragão, C. F. S., Do-Nascimento, T. G., Gomes, A. P. B. Application of the thermal analysis in the characterization of anti-hypertensive drugs. *J. Therm. Anal. Cal.*, 59: 657-661, 2000.
- Marques, G.S., Monteiro, R.P.M., Leão, W.F., Lyra, M.A.M., Peixoto, M.S., Rolim-Neto, P.J., Xavier, H.S., Soares, L.A.L. Avaliação de Procedimentos para Quantificação Espectrofotométrica de Flavonoides Totais em Folhas de *Bauhinia forficata* Link. *Quim. Nova.* XY (00): 1-6, 2011.
- Moreira, G.F.; Balbo, A.; Achete, C.A.; Barin, J.S.; Wollinger, W.; Nogueira, R.; Bittencourt, C.F.; Rodrigues, J.M. Aplicação da Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) para Determinação da Pureza de Fármacos. *Produto & Produção.* 11 (1): 22 - 29, 2010.
- Paula, N. K. & Sena, M. M. Validação de metodologia analítica para o doseamento simultâneo de mebendazol e tiabendazol por cromatografia líquida de alta eficiência. *Quim. Nova.* 30(5): 1359-1361, 2007.
- Presmich, G.M.A. *Incremento da solubilidade/dissolução da β -lapachona utilizando tecnologias de dispersões sólidas e complexos de inclusão.* 2009. Recife. 168p. Tese (Doutorado em Produção de Medicamentos), Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade de Pernambuco.
- Silva, R.M.F., Oliveira, F.H.C., Stratmann, R.R., Pimentel, M.F., Medeiros, F.P.M.; Albuquerque, M.M., Rolim-Neto, P.J.; Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica para Doseamento da Matéria-Prima e Cápsulas de Sulfato de Indinavir por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. *Acta Farm. Bonaerense.* 25(4): 578-82, 2006.
- Silva, R.M.F., Oliveira, F.H.C., Rolim, C.M.B., Pimentel, M.F., Medeiros, F.P.M.; Albuquerque, M.M., Rolim-Neto, P.J. Cápsulas de sulfato de indinavir: desenvolvimento farmacotécnico-industrial, desenvolvimento do método de dissolução e avaliação. *Brazil. J. Pharm. Sci.* 43(3): 385-395, 2007.
- Soares, M.F.L.R., Soares-Sobrinho, J.L., Grangeiro-Júnior, S., Silva, K.E.R., Alves, L.D.S., Rolim-Neto, P.J. Development of new dissolution test and HPLC-RP method for anti-parasitic ornidazole coated tablets. *Quim. Nova.* 33(2): 478-481, 2010.
- Tavares, M.F.M. & Pereira, E.A. Avaliação de Contaminantes Inorgânicos e orgânicos em álcool Combustível utilizando Eletroforese Capilar. *Quim. Nova.* 29(1): 66-77, 2006.
- The United States Pharmacopeia, 30^a ed. Rockville: The United Pharmacopeia Convencional, 2007.
- Vogel. Eletrogravimetria *In: Análise Química Quantitativa.* 6 ed. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 2002, cap. 12, p. 409-421.