

ESTUDO COMPARATIVO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO ENTRE MEDICAMENTOS GENÉRICO E SIMILAR DO CAPTOPRIL APÓS CONDIÇÕES DE ESTRESSE POR HIDRÓLISE.

Newton Nascimento Ciraulo (1); Kimberly Stefanny da Silva (2); Geanni Rívia X. Moura Lima (3);
Steno Lacerda de Oliveira (1)*;

Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba FCM-PB, newtonn.jp@gmail.com

Resumo: Um número significativo de pessoas em todo o mundo é acometida pela hipertensão arterial, sendo a enfermidade mais frequente das doenças cardiovasculares, considerado um grave problema de saúde pública no Brasil. Com o objetivo de controlar a pressão arterial são utilizados medicamentos anti-hipertensivos, sendo representados, entre outros, pelo captopril. Levantou-se o questionamento, com o surgimento dos medicamentos similares e genéricos no mercado, se esses seriam equivalentes aos medicamentos de referência. Portanto, este trabalho tem por objetivo realizar um estudo comparativo do perfil do Rf (Fator de retenção), por cromatografia em camada delgada analítica (CCD) e câmara de ultravioleta (UV) com comprimento de onda de 254 nm, entre comprimidos de medicamentos genérico e similar do captopril antes e após serem submetidos a condições de degradação por hidrólise, pois os fármacos são considerados instáveis em meio aquoso e precisam de intervenções no processo de formulação e armazenamento, para que não comprometa a eficácia e a estabilidade da forma farmacêutica final. Para a avaliação da instabilidade sob a condição de hidrólise, deve ser levado em conta também, o pH do meio, porque os íons hidrogênio e hidroxila podem acelerar ou retardar o processo de degradação. Para o estudo de estresse utilizando condições de hidrólise, as soluções do fármaco, foram transferidas e diluídas em balão volumétrico de 100 mL, contendo 50 mL das soluções estressantes, e posteriormente completados a 100 mL. Em seguida, as soluções em meio ácido (HCl 0,1 mol.L⁻¹) e básico (NaOH 0,1 mol.L⁻¹), foram devidamente vedados com papel alumínio e reservados á temperatura ambiente durante 24 horas. Outras amostras foram submetidas à banho-maria por 24 horas a 60°C. Após esse período foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica para análise do perfil cromatográfico. Com intuito de avaliar o efeito de dois fatores como hidrólise associado a temperatura, ao analisar o perfil cromatográfico das amostras do captopril (matéria prima, produto genérico e similar), os quais foram deixados em contato com a solução estressante por 24 horas a temperatura de 25°C, não foi possível observar manchas semelhantes ao do captopril.

Palavras-chave: Estabilidade; Degradação forçada; Captopril.

Introdução

A hipertensão arterial vem se tornando uma das enfermidades mais frequentes dentre as doenças cardiovasculares (Grilo et al., 2015), motivo pelo qual esta é um grave problema de saúde pública, pois acomete um número significativo de pessoas em todo o mundo (Andrade et al., 2015). Quase um quarto dos brasileiros adultos apresenta quadro de hipertensão. Com o objetivo de controlar a pressão arterial são utilizados medicamentos anti-hipertensivos, sendo representados, entre outros, pelo captopril.

O captopril é um fármaco inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA) usado para o tratamento da hipertensão arterial (RANG, 2007) (Figura 1).

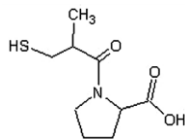


Figura 1. Estrutura do captopril

Por ser um fármaco de grande utilização no Brasil, torna-se importante a utilização de métodos simples e seguros para avaliar, de forma confiável, suas formulações e sua qualidade, visando à segurança de uso dos medicamentos consumidos pela população (FERREIRA et al. 2013).

Com o surgimento dos medicamentos similares e genéricos no mercado, levantou-se o questionamento se esses teriam a mesma qualidade, apresentando os resultados equivalentes aos medicamentos de referência. Para isso, a indústria farmacêutica utiliza diferentes ferramentas analíticas voltadas ao controle da qualidade de insumos e medicamentos, em cumprimento à legislação e à necessidade dos pacientes. Muitas vezes, para atender aos requisitos de qualidade, é necessário o emprego de métodos instrumentais de custo elevado, como a cromatografia líquida de alta eficiência, a cromatografia gasosa e a eletroforese capilar (MALUF, 2008).

Nesta perspectiva, o uso da cromatografia em camada delgada (CCD), torna-se uma ferramenta analítica consolidada, de fácil aplicação, custo baixo e sensibilidade compatível com as necessidades da indústria farmacêutica (MALUF, 2008).

Para verificar a qualidade de produtos medicamentosos, e com a finalidade de garantir a integridade química, física, microbiológica, terapêutica e toxicológica do fármaco e da forma farmacêutica dentro dos limites especificados, sob influência dos fatores ambientais em função do tempo, são

preconizados estudos de estabilidade (SILVA, 2009).

A estabilidade dos produtos farmacêuticos depende de fatores ambientais como temperatura, umidade, luz e de outros fatores relacionados ao próprio produto como propriedades físicas e químicas, de substâncias ativas e excipientes farmacêuticos, forma farmacêutica e sua composição, processo de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagens (Brasil, 2005).

A realização do teste de estresse, assim como o desenvolvimento do método analítico para a identificação e quantificação dos produtos de degradação é de extrema importância para as indústrias farmacêuticas, pois no momento do registro, pós-registro e renovação, o estudo de estresse, acompanhado de sua análise crítica deverá ser contemplada (SILVA, 2009).

Diante do exposto, esse trabalho tem por objetivo realizar um estudo comparativo do perfil do Rf (Fator de retenção), por cromatografia em camada delgada analítica, entre os medicamentos genérico e similar do captopril antes e após serem submetidos a testes de degradação.

Metodologia

Teste de Estresse

O teste de estresse é definido como um teste de estabilidade para fármacos e medicamentos sob condições extremas. Este teste é importante dentro do planejamento para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica, pois a investigação da estabilidade intrínseca do fármaco fornece informações acerca de formulação e direciona na escolha dos tipos de adjuvantes, aditivos de proteção específicos e de acondicionamento, que provavelmente melhorarão a integridade do fármaco e do produto. Demonstrando assim, que o conhecimento do comportamento químico do fármaco e excipientes pode ser usado para garantir a estabilidade da forma farmacêutica desejada (REYNOLDS et al., 2002; AULTON, 2005).

No Brasil, a ANVISA, através do Informe Técnico nº1, esclarece procedimentos a serem seguidos no item 2.8 da RE nº 398/2004 – regulamentações específicas sobre estudos de estabilidade, vigentes à época, além dos estudos de fotoestabilidade exigidos no item 2.6 da Resolução RE nº 398/2004, assim como as recomendações para a sua realização no Anexo II da mesma (BRASIL, 2005).

Este procedimento inclui a realização de testes sob condições de estresse especificadas pela ANVISA, através do Informe Técnico nº1 de 15 de julho de 2008 (Tabela 1), que resultaram na apresentação da análise dos produtos de degradação nos

estudos de estabilidade acelerada e de longa duração com a forma farmacêutica final.

Tabela 1. Condições de estresse para realização de degradação forçada.

Aquecimento	60 °C
Umidade	75% UR ou maior
Solução ácida	0,1 M HCl
Solução básica	0,1 M NaOH
Solução oxidativa	3% H ₂ O ₂
Fotolítica	UV-B fluorescente

Fonte: ANVISA, 2008.

Teste de degradação por hidrólise

Muitos fármacos são considerados instáveis em meio aquoso e precisam de intervenções no processo de formulação e armazenamento, para que não comprometa a eficácia e a estabilidade da forma farmacêutica final (Ansel et al., 2007). Para a avaliação da instabilidade sob a condição de hidrólise, deve ser levado em conta também, o pH do meio, porque os íons hidrogênio e hidroxila podem acelerar ou retardar o processo de degradação (Sinko, 2008).

Para realização do estudo de estresse em condição de hidrólise ácida, utiliza-se principalmente ácido clorídrico (HCl) e para caráter de hidrólise básica utiliza-se hidróxido de sódio (NaOH), porém, são observadas

variações no tempo e na temperatura de exposição de fármacos para essa condição (Alcântara et al., 2013). Na literatura existem poucos relatos sobre a realização de hidrólise em pH neutro (geralmente utiliza-se água como agente de hidrólise), pois nessa condição, a taxa de decomposição é lenta, o que é compreensível, porque reações em pH neutro são não catalíticas e por isso podem ser necessários períodos muito longos sob condições de temperatura extremas, para conseguir quantidades suficientes de produtos de degradação (Silva et al., 2009).

Inicialmente as condições de estresse são realizadas, assumindo que o fármaco seja instável, portanto, sujeito a receber condições mais amenas. De acordo com os resultados obtidos, observa-se a necessidade de aumentar ou diminuir a concentração das condições de reação utilizada (Blessy et al., 2013; Silva et al., 2009).

Para os estudos de hidrólise, soluções do fármaco, foram submetidas a degradações em soluções de meio ácido (HCl 0,1 mol.L⁻¹), básico (NaOH 0,1 mol.L⁻¹). Posteriormente foram analisadas por CCDA.

Preparo da amostra

Foram pesadas e pulverizadas aproximadamente 0,050 g da matéria-prima, dois comprimidos genérico e dois comprimidos similar do captopril. O pó resultante da trituração dos comprimidos no

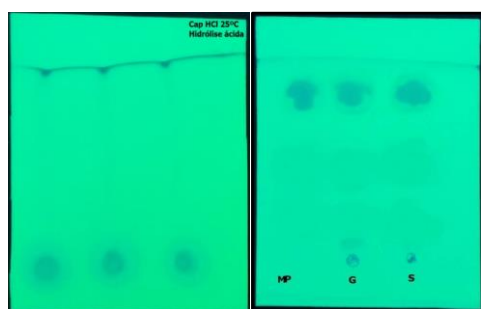
gral, foi transferido para béqueres de 25 mL e solubilizados com 1 mL de diclorometano.

Para o estudo de estresse utilizando condições de hidrólise, as soluções do fármaco, foram transferidas e diluídas em balão volumétrico de 100 mL, contendo 50 mL das soluções estressantes, e posteriormente completados a 100 mL. Em seguida, as soluções em meio ácido (HCl 0,1 mol.L⁻¹) e básico (NaOH 0,1 mol.L⁻¹), foram devidamente vedados com papel alumínio e reservados à temperatura ambiente durante 24 horas. Outras amostras foram submetidas à banho-maria por 24 horas a 60°C. Após esse período foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica para análise do perfil cromatográfico.

Resultados e Discussão

a) Hidrólise ácida

Nas soluções submetidas à hidrólise ácida à 25°C, não foi possível observar mancha do captopril no decorrer do perfil cromatográfico (Figura 2), o que pode estar relacionado a presença de produtos de degradação deste fármaco.



a) b)
Fonte: (Kimberly, 2016).

Figura 2: a) Perfil cromatográfico (CCDA) das amostras matéria prima (MP), genérico (G), similar (S) do captopril, submetidas à degradação por condições de hidrólise ácida à temperatura de 25°C, por um período de 24 horas. b) Padrão R_f.

Á fins de avaliar o efeito de dois fatores como hidrólise associado a temperatura, ao analisar o perfil cromatográfico das amostras do captopril (matéria prima, produto genérico e similar), os quais foram deixados em contato com a solução estressante por 24 horas a temperatura de 60°C, não foi possível observar manchas semelhantes ao do captopril (Figura 11), o que leva também a relacionar possíveis interações com excipientes das formulações, ou até mesmo a degradação do fármaco diante deste teste

A hidrólise pode estar relacionada com a estrutura química do captopril, devido apresentar uma função amida, portanto se hidrolisa facilmente em pH ácido por se tratar de uma base fraca, apresentando pKa 9,8 (grupo sulfidril) (Silva, 2014).

b) Hidrólise básica

Foi conduzido o estudo de degradação à hidrólise básica durante o tempo de 24 horas à uma temperatura de 60°C. No qual, foi possível observar mudança visual nas soluções das amostras de captopril genérico e similar, de acordo com a figura 12, o que pode estar relacionado a presença de produtos de degradação deste fármaco.

Ao analisar o perfil cromatográfico, não foi possível observar mancha do captopril no decorrer do perfil cromatográfico (Figura 3), corroborando com a possível presença de produtos de degradação deste fármaco.



Fonte: (Kimberly, 2016).

Figura 3: a) Perfil cromatográfico (CCD) das amostras matéria prima (MP), genérico (G), similar (S) do captopril, submetidas à degradação por condições de hidrólise básica à temperatura de 60°C, por um período de 24 horas; b) Padrão R_f.

Conclusão

Com intuito de avaliar o efeito de dois fatores como hidrólise associado a temperatura, ao analisar o perfil cromatográfico das amostras do captopril (matéria prima, produto genérico e similar), os quais foram deixados em contato com a solução estressante por 24 horas a temperatura de 25°C, não foi possível observar manchas semelhantes ao do captopril, o que leva também a relacionar possíveis interações com excipientes das formulações, ou até mesmo a degradação do fármaco diante deste teste.

Foi possível observar que o perfil cromatográfico da amostra do medicamento genérico e similar do captopril, mostrou-se idêntico.

A utilização de cromatografia em camada delgada analítica mostrou-se eficiente

para verificar o perfil de degradação do captopril, sendo necessárias técnicas analíticas mais sensíveis para identificação dos produtos de degradação.

A CCD para análise do captopril demonstrou ser um método simples, rápido e de baixo custo, podendo ser aplicado para análise qualitativa de captopril forma farmacêutica de comprimido em ensaios de rotina do Controle de Qualidade deste fármaco para garantir a segurança e eficácia do fármaco.

REFERÊNCIAS

AULTON, M. E. Pré-formulação farmacêutica: delineamento de formas farmacêuticas. 2 ed. Porto Alegre: Artmed; p. 677, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hipertensão atinge 24,3% da população adulta** Disponível em: <<http://www.brasil.gov.br/saude/2013/11/hipertensao-atinge-24-3-da-populacao-adulta>>, Acessado em 10/03/2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) Informe Técnico nº 01, de 15.07. 2008. Esclarecimento sobre o item 2.9 do anexo da Resolução RE nº1 de 29/07/2005, que trata do

Guia para realização dos estudos de estabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 julho 2008.

BRASIL, **Farmacopeia Brasileira**, Agência Nacional de Vigilância Sanitária vol. 2, 5ª ed. Brasília, 2010.

BRASIL. Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Poder executivo, Brasília, DF, Diário Oficial da União, 02 jun 2003. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&word>>. Acessado em: 10/03/2016.

BRASIL. Resolução nº 01, de 29 de julho de 2005. Guia para a realização de estudos de estabilidade. [Internet]. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Poder Executivo, Brasília, DF, Diário Oficial da União, 01 ago. 2005. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18109&word>>. Acessado em: 10/03/2016.

FERREIRA et al. **Determinação quantitativa da dipirona sódica pelo método de volumetria e espectroscopia de absorção na região UV-vis**. Interdisciplinar: Revista Eletrônica da Univar, n.º9, (1): 69 – 76 2013.

GRILO, L. E. M., MACIEL, A. G., SANTOS, M.I.P, et al. **Perfil epidemiológico da hipertensão arterial sistêmica: uma breve revisão de literatura**. [Apresentação no 9º Fórum de ensino, pesquisa, extensão e gestão do campus universitário professor Darcy Ribeiro; 2015 set 1-3; Minas Gerais, Brasil].

LIMA, I.A., REIS, R.R., MELO, E.B. **Desenvolvimento e validação de método seguro e ambientalmente adequado para quantificação de Atenolol em matéria prima e comprimidos**. Biosci.J. 2012 mai-jun; 28(3):484-493.

MALUF, D. F., NAGATA, N., FARAGO, P. V., ZAMORA, P. G. P. **Determinação simultânea de paracetamol e cafeína por espectrometria UV-Vis associada a ferramentas matemáticas**. Rev. Bras. Farm., 89(1): 39-43, 2008.

PAIVA, J. F. R., LOPES, C. C., LOPES, R. S. C., ALBERT, A. L. M., CHANTRE, L. G. F., FURTADO DO, A. P. A., et al. **Estudo do controle de degradação do captopril na análise de comprimidos por cromatografia líquido de alta eficiência**. Rev Virtual Quim., 2015; 7(6):2026-2048.

PINTO, T. J. A.; KANEKO, T. M.; OHARA, M. T. **Controle biológico de qualidade de produtos farmacêuticos, correlatos e**

cosméticos. São Paulo: Atheneu. p.75-95.
2000.

RANG, H. P., DALE, M. M., RITTER, J.M.,
GARDNER, P. **Farmacologia**. Elsevier, 6^a
ed. 2007.

Resolução RDC nº 12, 02 de janeiro de 2001.
Disponível em:
<[http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01r
dc.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01r
dc.htm)>. Acesso em: 27 de março de 2016.

REYNOLDS, D. W.; FACCHINE, K. L.;
MULLANEY, F. J.; ALSANTE, K. M.;
HATAJIK, T. D.; MICHEL, M. G. **Available
guidance and best practices for conducting
forced degradation studies**. Pharm Technol.
26(2):48-56, 2002.

SILVA, K. E. R.; ALVES, L. D. S.; SOARES,
M. F. R.; PASSOS, R. C. S.; FARIA, A. R.;
ROLIM NETO, P. J. **Modelos de Avaliação
da Estabilidade de Fármacos e
Medicamentos para a Indústria
Farmacêutica**. Rev Ciênc Farm Básica
Apl., 30(2):129-135, 2009.