



Desenvolvimento de métodos analíticos qualitativos para a análise de darunavir comprimidos

Ana Carolina Kogawa^{1,*}; Hérica Regina Nunes Salgado¹

¹ Departamento de Fármacos e Medicamentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, Araraquara, São Paulo, Brasil

RESUMO

O darunavir é um inibidor de protease utilizado para o tratamento da infecção pelo HIV. Trata-se de um dos pilares da terapia de coquetel para pacientes portadores do vírus. O controle de qualidade na indústria farmacêutica, para identificação do teor de substância ativa e estudo das características físico-químicas do fármaco, é de fundamental importância para garantir a qualidade do produto final. O darunavir, até então, não possui métodos de análise padronizados em compêndios oficiais. Este fato justifica novas pesquisas nesta área para o desenvolvimento e validação de métodos analíticos, bem como a análise químico-farmacêutica para este fármaco tanto na matéria-prima como no produto acabado. Dessa forma, neste trabalho foram realizados (a) peso médio; (b) determinação do ponto de fusão; (c) cromatografia em camada delgada; (d) análise na região do ultravioleta; (e) análise na região do infravermelho e (f) cromatografia líquida de alta eficiência. Através do desenvolvimento das técnicas propostas é possível avaliar qualitativamente a qualidade de darunavir em comprimidos.

Palavras-chave: Análise qualitativa. Comprimidos. Controle de qualidade. Darunavir.

INTRODUÇÃO

O darunavir é um inibidor de protease utilizado para o tratamento da infecção pelo HIV. Trata-se de um dos pilares da terapia de coquetel para pacientes portadores do vírus. É um análogo sintético não peptídico do amprenavir que se tornou disponível comercialmente em 2006. No mercado encontram-se comprimidos de darunavir etanolato de 75, 300, 400 e 600 mg por esta ser a forma mais estável. Ele é comercializado pela Janssen-Cilag com o nome de PrezistaTM.

O darunavir tem fórmula molecular $C_{27}H_{37}N_3O_7S$, peso molecular de 547,73 g mol⁻¹ (Goldwirt et al., 2007), ponto de fusão de 74°C com decomposição (O’Neil, 2006) e número CAS 206361-99-1.

São conhecidas três formas de darunavir: etanolato, hidrato e amorfo. O Prezista® está na forma etanolato (peso molecular de 593,73 g mol⁻¹) por esta ser a forma mais estável, mas as condições ambientais podem desencadear a conversão em outras formas (Van Gysegem et al., 2009).

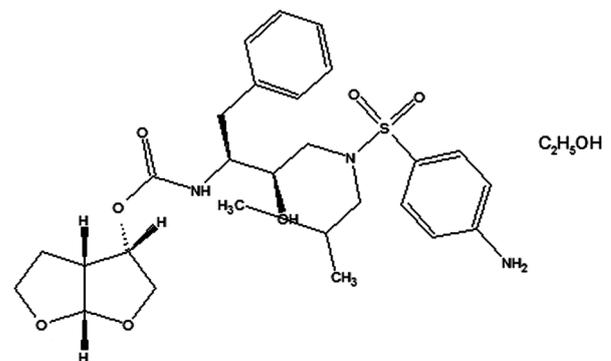


Figura 1. Estrutura química do darunavir etanolato (CAS 206361-99-1).

Foi observado que o darunavir é bem tolerado, com efeitos adversos menores do que outros inibidores de protease (García et al., 2011). De acordo com McCoy (2007), os eventos adversos do darunavir mais comumente relatados são sintomas gastrointestinais, náusea e dores de cabeça.

A monoterapia apresenta eficácia não inferior à terapia tripla, com darunavir e dois análogos nucleosídicos da transcriptase reversa (García et al., 2011).

O desenvolvimento de métodos analíticos eficazes para controle de qualidade de medicamentos comercializados é extremamente importante e tem como objetivo fornecer informações confiáveis sobre a natureza e a composição dos materiais em análise (La Roca et al. 2007). O controle de qualidade na indústria farmacêutica, para identificação do teor de substância ativa e estudo das características físico-químicas do fármaco, é fundamental para garantir a qualidade do produto final.

O darunavir não apresenta monografia descrita na Farmacopeia Brasileira (2010), Farmacopeia Portuguesa (2005), USP 35 (2012) e British Pharmacopoeia (2010). Este fato justifica novas pesquisas nesta área para o desenvolvimento e validação de métodos analíticos, bem como a análise químico-farmacêutica para este fármaco tanto na matéria-prima como no produto acabado.

Autor correspondente: Ana Carolina Kogawa - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” e-mail: ac_kogawa@yahoo.com.br

MATERIAIS E MÉTODOS

Substância Química de Referência (SQR)

A SQR utilizada foi o darunavir etanolato, teor de 98,0 %, lote SRP07000d, da empresa britânica Sequoia Research Products.

Amostras

A forma farmacêutica utilizada foi comprimidos de darunavir 300 mg, lote AEZOCOO, comercialmente conhecido como Prezista™ da Janssen-Cilag.

Reagentes

Cromatografia em Camada Delgada

O sistema eluente constituiu-se de uma mistura de água purificada, metanol (SYNTH), e ácido acético glacial (QUEMIS), ambos grau analítico. Para o preparo das amostras foi utilizado álcool etílico (SYNTH), grau analítico.

Espectrofotometria na região do UV

As soluções das amostras foram preparadas em álcool etílico (SYNTH), grau analítico.

Espectrofotometria de absorção na região de infravermelho

Para a confecção das pastilhas utilizou-se brometo de potássio (Synth), reagente analítico.

Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

As soluções das amostras foram preparadas em álcool etílico (SYNTH). Foram utilizados água purificada, acetonitrila (J.T.BACKER), ácido trifluoroacético (SIGMA ALDRICH), ácido acético glacial (QUEMIS) e ácido fórmico (SYNTH), como solventes.

Equipamentos e acessórios

Determinação do Peso Médio

Foi utilizada balança semianalítica, BG1000 (Gehaka®, São Paulo, Brasil).

Determinação do Intervalo de Fusão

Foi utilizado equipamento LS Logen Scientific e tubos capilares de 1 mm de espessura e 6 cm de comprimento.

Cromatografia em Camada Delgada

A migração cromatográfica foi realizada em placas com sílica-gel 60 F₂₅₄ (20 x 20 cm), espessura de 0,25 mm (MERCK). O revelador utilizado foi lâmpada ultravioleta UVA a 365 nm.

Espectrofotometria na região do UV

O equipamento utilizado foi o espectrofotômetro Shimadzu UV mini – 1240 e cubetas de quartzo com 1 cm de caminho óptico.

Espectrofotometria de absorção na região de infravermelho

O equipamento utilizado foi o espectrofotômetro IRPrestige-21 (Shimadzu®, Kyoto, Japão) e as amostras foram dessecadas em estufa (Nova Ética®, São Paulo, Brasil).

Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Foram utilizados bomba cromatográfica 1525 (Waters®, Massachusetts, Estados Unidos), injetor manual 7725i (Rheodyne Breeze®, Estados Unidos) e detector UV-Vis 2487 (Waters®, Massachusetts, Estados Unidos). As colunas testadas foram Agilent Zorbax C₁₈ 5 µm (150 x 4,6 mm ID), Phenomenex Luna CN C₁₈ 5 µm (250 x 4,6 mm ID) e Phenomenex Luna C₈ 5 µm (250 x 4,6 mm ID).

Métodos

Determinação do Peso Médio

A determinação do peso médio foi realizada conforme a Farmacopeia Brasileira V (2010). Foram pesados, individualmente, 20 comprimidos. Para comprimidos contendo peso médio acima de 250 mg, a variação de peso permitida é ± 5,0 %.

Determinação do Intervalo de Fusão

A técnica está baseada na adição de uma pequena quantidade de pó dentro do tubo capilar. O pó deve ser compactado cuidadosamente para garantir o ponto de fusão de todo o material fornecendo um valor mais correto.

O tubo capilar foi colocado na célula de aquecimento e observou-se a fusão do fármaco através de uma lupa. Um termômetro foi acoplado à célula para acompanhar a temperatura.

Cromatografia em Camada Delgada

As amostras de darunavir SQR, comprimidos e placebo foram preparadas em álcool etílico na concentração de 400 µg/mL. O sistema de fase móvel proposto foi preparado a partir da mistura de água purificada e metanol na proporção de 70:30 (v/v), respectivamente, com ajuste do pH para 3,0 com ácido acético glacial.

Para o ensaio, inicialmente, procedeu-se a saturação da cuba de vidro com o sistema de fase móvel. As placas com sílica-gel foram primeiramente colocadas em estufa a 105°C por uma hora. Com auxílio de seringa de 100 µL, foram transferidas alíquotas da SQR, amostra e placebo para as placas.

Após migração da fase móvel, a placa foi retirada da cuba de vidro, deixando o solvente evaporar. As placas foram reveladas em câmara UVA a 365 nm, para a comparação das manchas quanto à forma, posição e tamanho. Foram determinados os R_fs do darunavir SQR, da amostra e do placebo. O valor de R_f foi obtido através

do quociente entre a distância de migração do fármaco e a distância percorrida pelo eluente.

Espectrofotometria na região do UV

Foram preparadas soluções de darunavir SQR em álcool etílico na concentração de 400 µg/mL em balão volumétrico de 50 mL e colocadas em aparelho ultrassom por 30 minutos. A partir desta solução, foi transferida alíquota de 500 µL para balão volumétrico de 10 mL, completado o volume com álcool etílico obtendo-se uma concentração final de 20 µg/mL.

O peso médio de 20 comprimidos de darunavir foi de 647,81 mg. Posteriormente, os comprimidos foram triturados e foi pesado o equivalente a 1 peso médio dos comprimidos, transferidos para balão volumétrico de 50 mL e colocadas em aparelho ultrassom por 30 minutos com álcool etílico. Cerca de 25 mL desta solução estoque foi filtrada em papel de filtro e a partir desta solução, foi transferida alíquota de 500 µL para balão volumétrico de 10 mL, completando o volume com álcool etílico obtendo-se uma concentração final de 20 µg/mL.

O placebo é composto de celulose microcristalina, dióxido de silício coloidal, crospovidona, estearato de magnésio, polivinil álcool, PEG 3350, dióxido de titânio e talco. O placebo foi analisado juntamente com a SQR e a amostra para avaliar sua influência na análise espectrofotométrica de darunavir na região do UV. Foi preparada uma solução com a mistura de excipientes na concentração de 400 µg/mL em balão volumétrico de 50 mL e colocada em aparelho ultrassom por 30 minutos, com álcool etílico. Cerca de 25 mL desta solução estoque foi filtrada em papel de filtro e a partir desta solução, foi transferida alíquota de 500 µL para balão volumétrico de 10 mL, completado o volume com álcool etílico obtendo-se uma concentração final de 20 µg/mL.

Os espectros foram obtidos a partir da varredura na faixa de comprimento de onda de 200 a 400 nm.

A identificação do darunavir SQR e comprimidos foi realizada através da sobreposição dos espectros obtidos em comparação quanto ao seu perfil característico e comprimentos de onda de máxima absorção.

Espectrofotometria de absorção na região de infravermelho

Para o desenvolvimento da metodologia de infravermelho, foram tomados 1,0 mg de darunavir SQR, comprimidos e placebo e foram diluídos em brometo de potássio, previamente dessecado até peso constante, para formar pastilhas de 150 mg cada.

As leituras foram realizadas em transmitância, a fim de avaliar a intensidade dos picos.

Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Foram preparadas soluções de darunavir SQR em álcool etílico na concentração de 400 µg/mL em balão volumétrico de 50 mL e colocadas em aparelho ultrassom por 30 minutos. A partir desta solução, foi transferida alíquota de 500 µL para balão volumétrico de 10 mL, completando o volume com etanol obtendo-se uma concentração final de 20 µg/mL.

O peso médio de 20 comprimidos de darunavir foi de 647,81 mg. Posteriormente, os comprimidos foram

triturados e foi pesado o equivalente a 1 peso médio dos comprimidos, transferidos para balão volumétrico de 50 mL e colocadas em aparelho ultrassom por 30 minutos com álcool etílico. Cerca de 25 mL desta solução estoque foi filtrada em papel de filtro e a partir desta solução, foi transferida alíquota de 500 µL para balão volumétrico de 10 mL, completado o volume com etanol obtendo-se uma concentração final de 20 µg/mL.

O placebo foi analisado juntamente com a SQR e a amostra para avaliar sua influência na análise de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do darunavir. Foi preparada uma solução com a mistura de excipientes na concentração de 400 µg/mL em balão volumétrico de 50 mL e colocada em aparelho ultrassom por 30 minutos com álcool etílico. Cerca de 25 mL desta solução estoque foi filtrada em papel de filtro e a partir desta solução, foi transferida alíquota de 500 µL para balão volumétrico de 10 mL, completado o volume com etanol obtendo-se uma concentração final de 20 µg/mL.

Foram obtidos cromatogramas com estas soluções no comprimento de onda de 268 nm, utilizando coluna Phenomenex Luna CN C₁₈ 5 µm (250 x 4,6 mm ID) e água purificada + 0,1% de ácido acético glacial: acetonitrila + 0,1% de ácido acético glacial (60:40, v/v) como fase móvel na vazão de 1,0 mL/min.

A identificação do darunavir SQR e comprimidos foi realizada através da sobreposição dos cromatogramas obtidos em comparação quanto ao seu perfil característico e tempo de retenção. Também foi avaliada a influência do placebo na análise do darunavir por CLAE.

RESULTADOS

Determinação do Peso Médio

A Tabela 1 relaciona o peso médio de vinte comprimidos com o desvio padrão relativo, limite inferior e limite superior.

Tabela 1. Relação do peso médio e o respectivo desvio padrão relativo, limite inferior e limite superior de vinte comprimidos de darunavir.

Peso médio de vinte comprimidos (mg)	Desvio padrão	Desvio padrão relativo (%)	Limite inferior (mg)	Limite superior (mg)
647,81	3,49	0,54	615,42	680,20

A Figura 2 ilustra a variação dos vinte comprimidos de darunavir pesados.

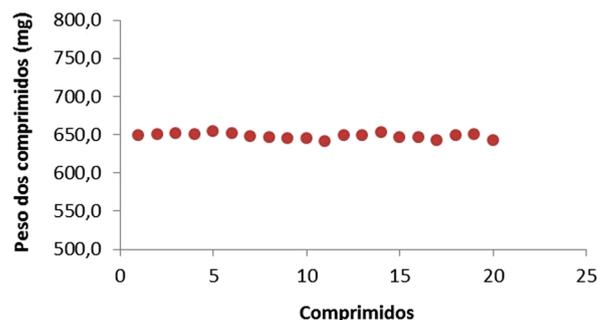


Figura 2. Ilustração da variação dos vinte comprimidos de darunavir pesados.

Determinação do Intervalo de Fusão

A Tabela 2 mostra o intervalo de fusão do darunavir etanolato.

Tabela 2. Valores do intervalo de fusão obtidos para o darunavir etanolato

Ensaio	Intervalo de fusão (°C)
1	103 – 106
2	104 – 107
3	103 – 107
4	102 – 106
5	102 – 106
Média ± e.p.m*	102,8 ± 0,37 – 106,4 ± 0,24

*e.p.m = erro padrão da média

A Figura 3 mostra o capilar contendo darunavir etanolato antes da análise e o capilar contendo darunavir etanolato depois da fusão a 106,4 °C.

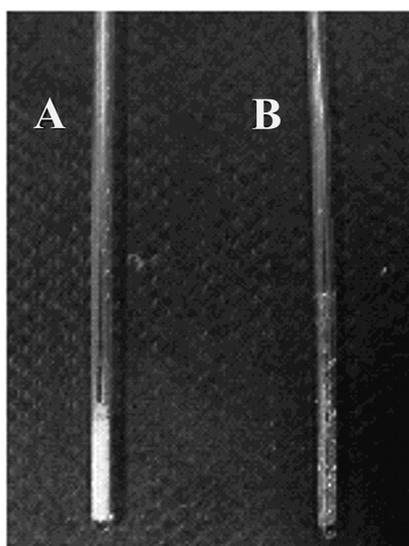


Figura 3. A Capilar contendo darunavir etanolato SQR antes da análise e B capilar contendo darunavir etanolato depois da fusão a 106,4 °C.

Cromatografia em Camada Delgada

Para a realização do método de CCD foi efetuado um extenso levantamento bibliográfico. O darunavir não está descrito na Farmacopeia Brasileira (2010), Farmacopeia Portuguesa (2005), USP 35 (2012) e British Pharmacopoeia (2010). Não foi encontrado trabalho na literatura que descrevesse a técnica de CCD para o darunavir.

Assim, foram testados vários sistemas solventes e elegeu-se o melhor tanto para a identificação do darunavir, formato da mancha visualizada na revelação (que não ficasse disforme) como valor de R_f, que permitisse a detecção de possíveis contaminantes através do aparecimento de outras manchas ao longo da distância percorrida. Dessa forma, elegeu-se a fase móvel água purificada e metanol (70:30, v/v), com pH ajustado para 3,0 utilizando ácido acético glacial.

Os valores de R_fs obtidos após a migração cromatográfica foram de 0,83, tanto para o darunavir SQR quanto para o darunavir comprimido. O formato e tamanho das manchas foram iguais tanto para a SQR como para a amostra. No placebo não foi detectada nenhuma mancha ao longo da distância percorrida pela fase móvel. Foram realizadas três análises, obtendo-se o mesmo resultado em todas as placas.

Os perfis cromatográficos das amostras após visualização em câmara UVA a 365 nm podem ser observados na Figura 4.



Figura 4. Perfil cromatográfico do placebo (A), darunavir comprimidos (B) e darunavir SQR (C), ambos com valor de R_f 0,83 através de visualização em câmara de UVA a 365 nm, fase estacionária composta por uma camada de sílica-gel e fase móvel contendo água purificada: metanol, 70:30 (v/v) com pH ajustado para 3,0 com ácido acético glacial.

Espectrofotometria na região do UV

A Figura 5 apresenta a sobreposição dos espectros de darunavir SQR, comprimidos e placebo, em álcool etílico na concentração de 20 µg/mL, mostrando que os excipientes dos comprimidos não possuem absorção no comprimento de onda utilizado na análise espectrofotométrica de darunavir na região do UV.

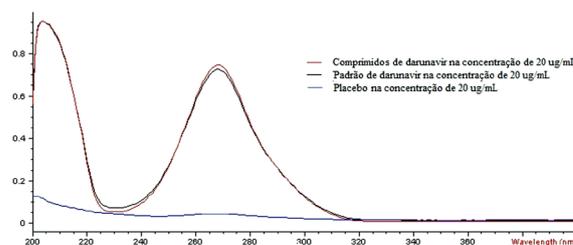


Figura 5. Espectros de darunavir padrão, comprimidos e placebo em álcool etílico na concentração de 20 µg/mL.

Espectrofotometria de absorção na região de infravermelho

A Figura 6 mostra a sobreposição dos espectros de infravermelho do darunavir SQR, darunavir comprimidos e placebo.

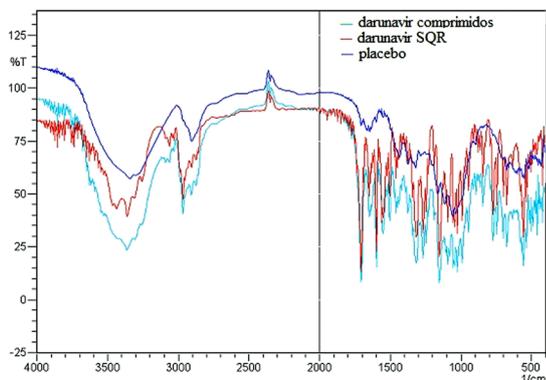


Figura 6. Sobreposição dos espectros de absorção de infravermelho do darunavir SQR, darunavir comprimidos e placebo.

É possível observar a semelhança do espectro do darunavir SQR e darunavir comprimidos (Figura 6).

O darunavir possui nove grupamentos funcionais, os quais estão destacados na Figura 7.

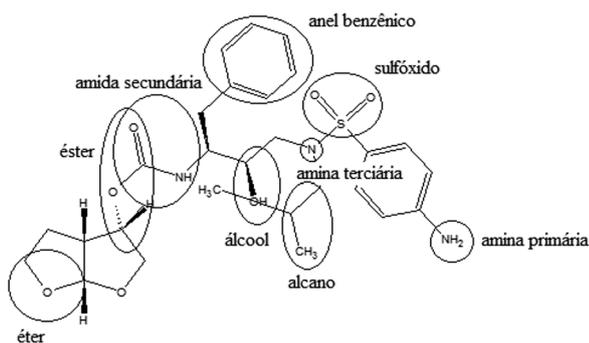


Figura 7. Grupamentos funcionais do darunavir.

A Figura 8 mostra o espectro de infravermelho do darunavir SQR com a indicação das bandas de absorção características.

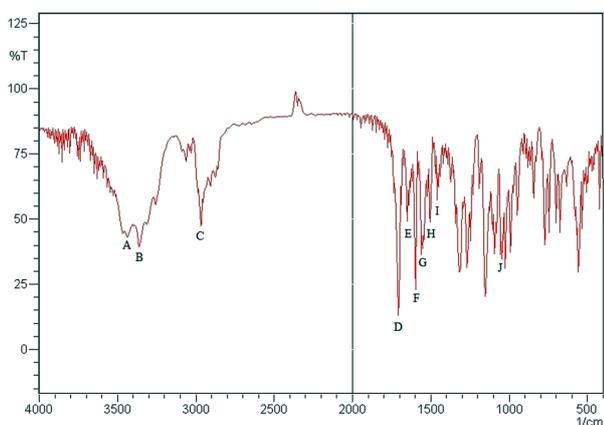


Figura 8. Espectro de absorção de infravermelho do darunavir SQR com as bandas características de absorção. As deformações das bandas indicadas no espectro na região de infravermelho estão relacionadas na Tabela 3.

A Tabela 3 relaciona as deformações das bandas indicadas no espectro de absorção no infravermelho para o darunavir SQR, darunavir comprimidos e placebo.

Tabela 3. Bandas do espectro de absorção na região de infravermelho com as respectivas deformações axiais.

Banda (cm-1)	Deformação axial	Região (cm-1)	
A	3470	Amina primária	3400
B	3255 e 3368	Amina primária e álcool	3300 e 3400-3300, respectivamente
C	2969 e 3061	Alcano e anel benzênico	2900 e 3080-2900, respectivamente
D	1709	Éster	1720
E	1633	Amida secundária	1650
F	1597	Anel benzênico	1600
G	1536	Anel benzênico	1580
H	1501	Anel benzênico	1500
I	1459	Anel benzênico	1450
J	1093	Sulfóxido conjugado	1080-1020

A amina primária possui duas bandas características, uma em 3400 e outra em 3300 cm^{-1} . A função álcool possui uma banda larga entre 3400 e 3300 cm^{-1} .

Alcanos são visualizados através de banda em 2900 cm^{-1} , a qual se refere ao carbono e hidrogênio. Anel benzênico possui banda em 3080 cm^{-1} referente à ligação carbono-carbono (C-C), 2900 cm^{-1} referente ao carbono e hidrogênio (C-H) e quatro bandas referentes à ligação dupla carbono-carbono (C = C) 1600, 1580, 1500 e 1450 cm^{-1} .

A função éster possui banda característica em 1720 cm^{-1} referente à carbonila (C=O). Amida secundária possui banda em 1650 cm^{-1} referente à carbonila (C=O).

O sulfóxido possui banda característica entre 1060 e 1040 cm^{-1} , mas na presença de conjugação este valor é deslocado de 10 a 20 cm^{-1} para frequência mais baixa.

A função éter não se determina e a função amina terciária é difícil de detectar, pois não apresenta bandas características (Silverstein & Webster, 2000).

Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A identificação do darunavir comprimidos foi determinada pelo seu respectivo tempo de retenção, comparado com o tempo de retenção do darunavir SQR (Figura 9).

Ambos os cromatogramas, da solução de darunavir SQR e amostra, apresentaram tempo de retenção de aproximadamente 7,9 minutos.

A Figura 10 apresenta a sobreposição dos espectros de darunavir SQR, comprimidos e placebo na concentração de 20 $\mu\text{g/mL}$, mostrando que os excipientes dos comprimidos não influenciam na análise do darunavir por CLAE no comprimento de onda utilizado no método, 268 nm.

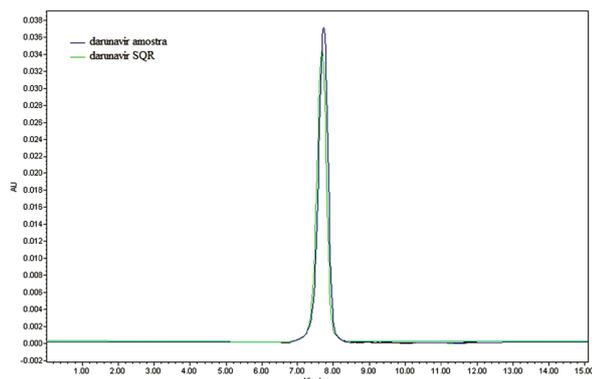


Figura 9. Sobreposição dos cromatogramas de darunavir SQR e amostra, ambos na concentração de 20 µg/mL, para identificação pelo método de CLAE utilizando coluna Phenomenex Luna CN C18 5 µm (250 x 4,6 mm ID) e água purificada + 0,1% de ácido acético glacial: acetonitrila + 0,1% de ácido acético glacial (60:40, v/v) como fase móvel na vazão de 1,0 mL/min.

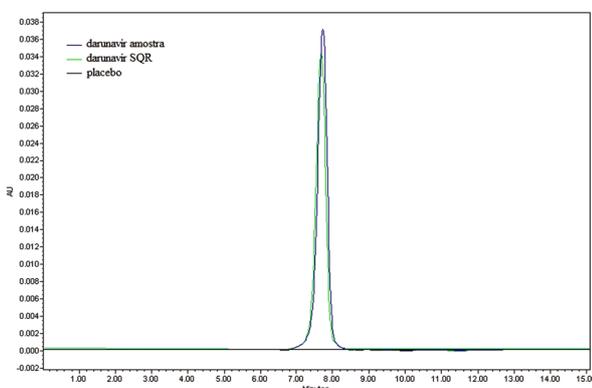


Figura 10. Sobreposição dos cromatogramas de darunavir SQR, amostra e placebo, todos na concentração de 20 µg/mL, para avaliação da influência dos excipientes na análise de darunavir por CLAE utilizando coluna Phenomenex Luna CN C18 5 µm (250 x 4,6 mm ID), água purificada + 0,1% de ácido acético glacial: acetonitrila + 0,1% de ácido acético glacial (60:40, v/v) como fase móvel na vazão de 1,0 mL/min e leitura em 268 nm.

DISCUSSÃO

Determinação do Peso Médio

As variações de peso dos comprimidos de darunavir encontram-se dentro dos limites pré-estabelecidos pela Farmacopeia Brasileira (2010).

A variação permitida é $\pm 5,0\%$, assim para os comprimidos de darunavir estudados os quais apresentaram peso médio de 647,81 mg, permite-se o peso máximo de 680,20 mg e peso mínimo de 615,42 mg. Como foram obtidos pesos máximo e mínimo de 651,31 e 644,31, respectivamente, é possível concluir que os comprimidos estão dentro do especificado para variação de peso. O desvio padrão relativo (DPR) apresentou valor de 0,54 %, o que também está dentro das especificações.

O peso médio foi realizado para verificar se os comprimidos encontravam-se dentro dos parâmetros farmacopeicos.

Determinação do Intervalo de Fusão

O ponto ou intervalo de fusão é uma avaliação físico-química útil na identificação de fármacos, pois fornece informações do grau de pureza e é utilizada para pesquisar a presença de possíveis contaminantes na amostra.

Os resultados obtidos neste teste não estão de acordo com o valor descrito na literatura, que refere que a substância se decompõe a temperatura de 74°C (O'Neil, 2006). O valor do ponto de fusão obtido pode ter sido diferente devido ao equipamento estar descalibrado. Entretanto, esta técnica por si só não possibilita a conclusão definitiva da identidade dos compostos, sendo necessária a execução de testes de identificação complementares (Cienfuegos & Vaistman, 2000).

Outras análises qualitativas serão realizadas para verificação da identidade da amostra de darunavir na SQR.

Cromatografia em Camada Delgada

A CCD é uma técnica flexível, pois permite a utilização dos mais variados sistemas eluentes e agentes reveladores. Apresenta-se como uma importante ferramenta capaz de identificar compostos, sendo de fácil execução, versátil e de baixo custo. Outra aplicação da CCD refere-se à possibilidade de verificar a presença de impurezas e produtos de degradação na amostra (Watson, 2005).

A visualização das manchas foi facilmente observada em câmara de UVA, sendo o método adequado, não havendo dificuldades para o cálculo do valor do R_f.

O resultado obtido sugere que o darunavir SQR e comprimidos possuem a mesma identidade e em ambos não ocorre a presença de impurezas de darunavir, pois não há o aparecimento de outras manchas, exceto as do fármaco em questão. Assim, o resultado do ensaio de CCD mostra a ausência de impurezas na amostra.

O método por CCD desenvolvido demonstrou ser adequado para a identificação do darunavir na forma farmacêutica em estudo.

Espectrofotometria na região do UV

A espectrofotometria na região do UV apresenta uma série de aplicações nas análises farmacêuticas. É um método útil na identificação e quantificação de fármacos, além de ser um ensaio rápido, simples e de fácil execução.

Os espectros de absorção obtidos nas análises de darunavir SQR e comprimidos demonstraram perfis semelhantes, sugerindo a mesma identidade das amostras. Tanto a SQR como a amostra apresentaram absorção em 268 e 205 nm quando utilizado álcool etílico como solvente.

Assim, o método demonstrou ser útil na identificação de darunavir nas formas farmacêuticas estudadas.

Espectrofotometria de absorção na região de infravermelho

A espectrofotometria na região do infravermelho é um método de identificação de excelência no controle de qualidade de medicamentos.

Os espectros na região de infravermelho para o darunavir SQR e darunavir comprimidos foram praticamente idênticos, confirmando o propósito desta técnica, que é a identificação da molécula por comparação com um padrão de referência.

Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

O método de CLAE, apesar de ser frequentemente aplicado para a análise quantitativa, pode ser muito útil na identificação de fármacos, por meio da comparação dos tempos de retenção da amostra e da respectiva SQR. Se as substâncias analisadas são idênticas, obrigatoriamente apresentarão o mesmo tempo de retenção, quando analisadas sob as mesmas condições.

Os cromatogramas obtidos nas análises de darunavir SQR e comprimidos demonstraram perfis semelhantes e tanto a SQR como a amostra apresentaram tempo de retenção em 7,9 minutos, sugerindo a mesma identidade das amostras quando utilizada coluna Phenomenex Luna CN C₁₈ 5 µm (250 x 4,6 mm ID), água purificada + 0,1% de ácido acético glacial: acetonitrila + 0,1% de ácido acético glacial (60:40, v/v) como fase móvel na vazão de 1,0 mL/min e leitura em 268 nm.

Assim, o método demonstrou ser útil na identificação de darunavir nas formas farmacêuticas estudadas.

Neste trabalho foram realizados (a) peso médio; (b) determinação do ponto de fusão; (c) cromatografia em camada delgada; (d) análise na região do ultravioleta; (e) análise na região do infravermelho e (f) cromatografia líquida de alta eficiência. E através do desenvolvimento destas técnicas foi possível avaliar qualitativamente e especificamente a qualidade de darunavir em comprimidos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq (Brasília, Brasil) e FAPESP, CAPES, PADC/FCF/FUNDUNESP (São Paulo, Brasil).

ABSTRACT

Development of qualitative analytical methods for monitoring darunavir tablets

Darunavir is a protease inhibitor used in the treatment of HIV infection. It is a pillar of the drug cocktail for patients diagnosed with the virus. Quality control in the pharmaceutical industry, to verify the content of active substance and study the physicochemical characteristics of the drug, is essential to ensure final product quality. Until now, standardized methods for the analysis of darunavir have not been available in official compendia. This justifies new research, to develop and validate analytical methods, as well as physicochemical and pharmaceutical analysis for this drug, both as a raw material and a finished product. Thus, in this study, (a) the average weight of darunavir tablets and (b) the melting point of the pure drug were determined, and the following analytical techniques were performed: (c) thin-layer chromatography, (d) ultraviolet spectroscopy, (e) infrared spectroscopy

and (f) high performance liquid chromatography. By developing the above techniques, it is possible to make a qualitative assessment of the quality of darunavir tablets.

Keywords: Qualitative analysis. Tablets. Quality control. Darunavir.

REFERÊNCIAS

British Pharmacopoeia - BP. v. I. London: Her Majesty's Stationary Office, London; 2010.

Cienfuegos F, Vaistman D, editors. Análise instrumental. 4th ed. Rio de Janeiro: Interciência; 2000.

Farmacopeia Brasileira. 5 ed. São Paulo: Atheneu; 2010.

Farmacopeia Portuguesa. 8 ed. Lisboa: Infarmed; 2005

García SP, Tunica DG, Serra MB. Desarrollo y validación de un método para la determinación de darunavir en plasma mediante LC-MS/MS. Rev Lab Clin. 2011; 4(3):127-33.

Goldwirt L, Chhuna S, Rey E, Launay O, Viard J, PONS G, Jullien V. Quantification of darunavir (TMC114) in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultra-violet detection. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2007;857(2):327-31.

La Roca MF, Sobrinho JLS, Nunes LCC, Neto PJR. Desenvolvimento e validação de método analítico: passo importante na produção de medicamentos. Rev Bras Farm. 2007;88(4):177-80.

McCoy C. Darunavir: A Nonpeptidic Antiretroviral Protease Inhibitor. Clin Ther. 2007;29(8):1559-76.

O'Neil MJ, Heckelman PE, Koch CB, Roman KJR, editors. The Merck Index. 14th ed. Whitehouse Station: Merck & Co; 2006.

Silverstein RM, Webster FX, editors. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos. 6th ed. Rio de Janeiro: LTC; 2000.

USP 35. The United States Pharmacopoeia. 35th ed. Rockville: The United States Pharmacopoeial Convention; 2012.

Van Gyseghem E, Stokbroekx S, de Armas HN, Dickens J, Vanstockem M, Baert L, Rosier J, Schueller L, Van den Mooter G. Solid state characterization of the anti-HIV drug TMC114: Interconversion of amorphous TMC114, TMC114 ethanolate and hydrate. Eur J Pharm Sci. 2009;38(5):489-97. Doi: 10.1016/j.ejps.2009.09.013.

Watson DG, editor. Pharmaceutical analysis: a textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists. 2nd ed. Edinburgh: Elsevier Churchill Livingstone; 2005.

Recebido em 23 de agosto de 2012

Aceito para publicação em 22 de outubro de 2012

