



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Obtenção Tecnológica de Anti-Retroviral à Base de
Sulfato de Indinavir

ROSALI MARIA FERREIRA DA SILVA

RECIFE – 2004



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Obtenção Tecnológica de Anti-Retroviral à Base de
Sulfato de Indinavir

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação do Departamento de Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Produção e Controle de Qualidade de Medicamentos

ROSALI MARIA FERREIRA DA SILVA

Orientador: Prof. Dr. Pedro J. Rolim Neto

Co-Orientadora: Prof^a Dr^a Miracy Muniz de Albuquerque

RECIFE – 2004

Silva, Rosali Maria Ferreira da
Obtenção tecnológica de anti-retroviral à base de
Sulfato de Indinavir / Rosali Maria Ferreira da Silva. –
Recife : O Autor, 2004.
73 folhas : il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal
de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2004.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Medicamentos – Sulfato de Indinavir –
Obtenção tecnológica. 2. Sulfato de Indinavir –
Desenvolvimento farmacotécnico-industrial –
Cápsulas. 3. Anti-retroviral – Sulfato de Indinavir –
Validação da metodologia analítica. 4. AIDS –
Medicamento – Sulfato de Indinavir (Inibidor da
protease). I. Título.

615.012:578.828	CDU (2.ed.)	UFPE
615.19	CDD (21.ed.)	BC2004-086



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Recife, 13 de Fevereiro de 2004.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 13 de Fevereiro de 2004 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto (**Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco**).

Assinatura: _____

EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra. Maria Fernanda Pimentel (**Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Pernambuco**).

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Profa. Dra. Clarice Madalena Bueno Rolim (**Departamento de Farmácia Industrial da Universidade Federal de Santa Maria**).

Assinatura: _____

Dedico este trabalho à minha família que me apoiou em todas as decisões e sempre me acolheu com amor e carinho em todos os momentos de minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por iluminar meu caminho nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto, pelo incentivo e confiança em mim depositada.

À Flávia Morais, pela orientação, atenção e apoio em todos os momentos.

Aos meus pais e ao meu irmão pela dedicação e apoio concedidos durante este período.

A Davi James, pelo incentivo e pela capacidade de estar sempre presente, em todos os momentos de minha vida.

Ao LAFEPE pelo incentivo a esta pesquisa e disponibilidade em fornecer todo o material que foi solicitado.

A todos os farmacêuticos, estagiários e colegas que trabalham no LAFEPE pelo apoio no decorrer da pesquisa.

A todos que fazem parte do Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos pelo apoio, incentivo e boa vontade.

Ao Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos (em especial à Prof^ª. Dr^ª. Miracy, Ruth, Rosário e Júnior), pela permissão para a utilização de alguns equipamentos utilizados neste trabalho.

A Fábio Cavalcanti, pela ajuda na pesquisa e nos assuntos de informática.

À USP (Prof^ª. Dr^ª. Marina Tavares), pela colaboração nos ensaios de eletroforese por capilaridade.

À UFPB (Prof. Rui Macedo, Ticiano e Wallace) pela realização dos ensaios de Análise Térmica.

À Prof^ª. Dr^ª. Fernanda Pimentel, pela colaboração no tratamento estatístico dos resultados da validação.

À Prof^ª. Dr^ª. Clarice Rolim, por orientar no desenvolvimento da metodologia para dissolução.

Ao Departamento de Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco – UFPE e a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xiv
LISTA DE TABELAS	xv
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xvii
LISTA DE SÍMBOLOS	xviii
RESUMO	xix
ABSTRACT	xx
INTRODUÇÃO	14
JUSTIFICATIVA	16
OBJETIVOS	16
ARTIGO I: O Uso do Sulfato de Indinavir na Terapia Anti-Retroviral	19
ARTIGO II: Caracterização do Sulfato de Indinavir para Certificação dos Fornecedores na Produção de Anti-Retrovirais	29
ARTIGO III: Thermal Characterization of Two Solvates Forms of Indinavir Sulfate Using TG, DSC and DSC-Photovisual	38
ARTIGO IV: Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica para Doseamento da Matéria-prima e de Cápsulas de Sulfato de Indinavir por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	46
ARTIGO V: Desenvolvimento Farmacotécnico-Industrial para Forma Farmacêutica Cápsula de Sulfato de Indinavir 400 mg	57
CONCLUSÕES	67
PERSPECTIVAS	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
ANEXOS	74

LISTA DE FIGURAS

Artigo II: Caracterização do Sulfato de Indinavir para Certificação dos Fornecedores na Produção de Anti-Retrovirais

Figura 01: Estudo de Granulometria dos Fabricantes A (Hetero Drugs [®]) e B (Xiamen Mchem [®])	34
Figura 02: Curvas DSC de padrões e matérias-primas para Sulfato de Indinavir	35
Figura 03: 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	35
Figura 04: 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	36

Artigo III: Thermal Characterization of Two Solvates Forms of Indinavir Sulfate Using TG, DSC and DSC-Photovisual

Figure 01: DSC curves of indinavir sulfate raw materials and standards at 10°C/min (ANEXO)	
Figure 02: DSC curves of indinavir sulfate raw materials at 15°C/min . (ANEXO)	
Figure 03: DSC curves of standards and raw materials of indinavir sulfate. (ANEXO)	
Figure 04: DSC photovisual: (Room temperature) - photos A ₁ , B ₁ , C ₁ , D ₁ and E ₁ ; (151°C) - A ₂ , B ₂ , C ₂ , D ₂ and E ₂ ; (160°C) – A ₃ , B ₃ , C ₃ , D ₃ and E ₃ ; (165°C) – A ₄ , B ₄ , C ₄ , D ₄ and E ₄ for raw materials C, B, A, standard A and standard B, respectively. (ANEXO)	

Artigo IV: Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica para Doseamento da Matéria-prima e de Cápsulas de Sulfato de Indinavir por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Figura 01: Cromatograma obtido da análise de Sulfato de Indinavir	52
Figura 02: Cromatograma obtido da análise do placebo de Sulfato de Indinavir	53

Artigo V: Desenvolvimento Farmacotécnico-Industrial para Forma Farmacêutica Cápsula de Sulfato de Indinavir 400 mg

Figura 01: Resultados da Comparação entre o Estudo de Granulometria da Formulação do Lote de Bancada I com o princípio ativo Sulfato de Indinavir (Hetero Drugs [®])	63
--	----

LISTA DE TABELAS

Artigo II: Caracterização do Sulfato de Indinavir para Certificação dos Fornecedores na Produção de Anti-Retrovirais

Tabela 01: Resultados do Controle de Qualidade Físico-Químico 32

Artigo III: Thermal Characterization of Two Solvates Forms of Indinavir Sulfate Using TG, DSC and DSC-Photovisual

Table 01: Percentage of mass loss of indinavir sulfate at 10°C/min (ANEXO)

Artigo IV: Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica para Doseamento da Matéria-prima e de Cápsulas de Sulfato de Indinavir por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Tabela 01: Resultados do Desenvolvimento da Metodologia utilizando Temperatura do Forno 25°C, Concentração de 200 ppm e Diluições em Fase Móvel (ANEXO)

Tabela 02: Resultados do Desenvolvimento da Metodologia utilizando Temperatura do Forno 40°C, Concentração de 200 ppm e Diluições em Fase Móvel (ANEXO)

Tabela 03: Resultados do Desenvolvimento da Metodologia utilizando Temperatura do Forno 40°C, Concentração de 100 ppm e Diluições em Água Ultra-Pura (ANEXO)

Artigo V: Desenvolvimento Farmacotécnico-Industrial para Forma Farmacêutica Cápsula de Sulfato de Indinavir 400 mg

Tabela 01: Pré-Formulação para Cápsula de Sulfato de Indinavir 59

Tabela 02: Resultados dos Controles de Qualidade Físico-Químicos 61

Tabela 03: Resultados dos Volumes Aparente e de Compactação e das Densidades Aparente e de Compactação 62

Tabela 04: Resultados do Estudo de Estabilidade do Lote Industrial 01 (ANEXO)

Tabela 05: Resultados do Estudo de Estabilidade do Lote Industrial 02 (ANEXO)

Tabela 06: Resultados do Estudo de Estabilidade do Lote Industrial 03 (ANEXO)

Tabela 07: Estudo Comparativo para Cápsulas de Sulfato de Indinavir 64

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍGLAS

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

IV - Infravermelho

min – minuto

ppm – Partes por milhão

rpm – Rotação por minuto

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

UFPE – Universidade Federal de Pernambuco

UV – Ultravioleta

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

°C – graus Celsius

dL - decilitro

g – Grama

Kg - Kilograma

L – Litro

mg – Miligrama

mL – Mililitro

mm³ – Milímetros cúbicos

nm – Nanometro

λ – Comprimento de onda

μ L – Microlitro

RESUMO

OBTENÇÃO TECNOLÓGICA DE ANTI-RETROVIRAL À BASE DE SULFATO DE INDINAVIR

A introdução de novos agentes anti-retrovirais no mercado tem sido mais freqüente, fato este que evidencia a constante necessidade de obter agentes terapêuticos mais eficazes e com menores efeitos colaterais. Devido ao grande número de casos de portadores do HIV no mundo e à capacidade do vírus em sofrer mutação, nos meados da década de 90, uma nova classe de agentes anti-retrovirais foi desenvolvida, os inibidores da protease, dentre eles destacando-se o Sulfato de Indinavir. Este, tem como produto de referência no mercado o CRIXIVAN[®], fabricado pela indústria farmacêutica Merck Sharp & Dohme[®] e disponibilizado para atender ao Programa de SIDA do Ministério da Saúde a um custo relativamente alto. Este estudo foi realizado em parceria com o Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos do Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE e o Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE). Sendo assim, fez-se necessário o desenvolvimento farmacotécnico-industrial do Sulfato de Indinavir 400 mg cápsulas, o qual contemplou os estudos de pré-formulação qualitativa de excipientes, os testes de bancada e a transposição para escala industrial, buscando uma forma farmacêutica estável, produzida a baixo custo e com qualidade atendendo às Boas Práticas de Fabricação e, conseqüentemente permitindo um maior número de portadores do HIV acesso ao medicamento. Outro objetivo do estudo foi o desenvolvimento e a validação da metodologia analítica para quantificação da matéria-prima e produto acabado, por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), onde foram definidos os parâmetros analíticos para o método e as especificações para os produtos em análise. Dando continuidade, foi iniciado, para as cápsulas de Sulfato de Indinavir, o estudo de estabilidade, tomando-se como base a Resolução –RE n° 560, publicada em 02 de abril de 2002 pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que preconiza a utilização de parâmetros para realização da estabilidade acelerada e de longa duração. Também foi efetuado um estudo comparativo do produto desenvolvido Sulfato de Indinavir LAFEPE[®] e o de referência CRIXIVAN[®]. Os estudos realizados com as cápsulas desenvolvidas demonstraram que eles são equivalentes entre si, sendo esta a etapa que antecede o estudo de bioequivalência para permitir a disponibilização do Sulfato de Indinavir LAFEPE como Medicamento Genérico para o mercado nacional.

Palavras-Chave: Sulfato de Indinavir, caracterização do princípio-ativo, validação por CLAE, transposição de escala, estabilidade, estudo comparativo.

ABSTRACT

TECHNOLOGICAL DEVELOPMENT OF NA NEW ANTIRETROVIRAL BASED ON INDINAVIR

The introduction of new antiretroviral agents into the market has been more frequent, fact this that indicates the need for more effective therapeutic agents presenting smaller side effects. Concerned with the crescent worldwide number of HIV infection cases and with the mutation capacity of the virus, a new class of agents was developed in the early 90s, the protease inhibitors. The Indinavir Sulfate is a highlighted member of this class of antiretroviral agents that presents CRIXIVAN[®], manufactured by the pharmaceutical industry Merck Sharp & Dohme[®] as the reference product. The Ministry of Health AIDS Program applies CRIXIVAN[®] as a relatively low cost therapeutic agent for AIDS treatment. The development of a new formulation, with performance equivalent to the reference formulation, will provide a cost effective alternative, consequently allowing a larger number of HIV positive patients to have access to the treatment. In order to achieve a new Indinavir Sulfate 400 mg capsules formulation, produced at a low cost and with quality following the Good Practices of Production and looking for a stable pharmaceutical form, excipients qualitative pre-formulation studies, pilot tests and the transposition for industrial scale were performed. Another objective of the study was the development and the validation of the analytical methodology for raw material and finished product quantification by of High Performance Liquid Chromatography (HPLC). The accelerated and long-term stability of the new Indinavir Sulfate capsule formulation were also evaluated, as specified by the Resolution - REVERSE n^o 560, published on April 02, 2002 by the National Agency of Sanitary Surveillance (ANVISA). After that, a comparative study involving the Indinavir Sulfate capsule formulation manufactured by LAFEPE[®] and the reference formulation CRIXIVAN[®] was performed. The formulation studies demonstrated that both formulations were equivalent, and then the bioequivalence study will be the next stage to finally allow Indinavir Sulfate produced by LAFEPE to be marketed as a Generic brand. This study was accomplished in partnership with both the Laboratory of Medicines Technology (Department of Pharmacy-UFPE) and the Pernambuco State Pharmaceutical Laboratory (LAFEPE).

Key Words: Indinavir Sulfate, Characterization, HPLC, Validation, Scale-up, Stability, Comparative Study.

INTRODUÇÃO, JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

1. Introdução

A Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA) foi reconhecida em meados de 1981, nos EUA, a partir da identificação de um número elevado de pacientes adultos do sexo masculino, homossexuais e moradores de São Francisco ou Nova York, que apresentavam sarcoma de Kaposi, pneumonia e comprometimento do sistema imune. Em 1983, o agente etiológico foi identificado e tratava-se de um retrovírus humano, atualmente denominado vírus da imunodeficiência humana, HIV¹.

Baseados nos conhecimentos da fisiopatogenicidade do vírus HIV, onde este permanece em constante multiplicação e apresenta grandes mutações, a necessidade de novas drogas motivou vários estudos em busca de novos medicamentos. O Sulfato de Indinavir é um dos mais recentes da classe dos agentes anti-retrovirais que se aplica ao tratamento das infecções HIV. Ele age no último estágio da formação do HIV, impedindo a ação da enzima protease que é fundamental para a clivagem das cadeias protéicas produzidas pela célula infectada em proteínas virais estruturais e enzimas que formarão cada partícula do HIV².

O Sulfato de Indinavir é indicado para o tratamento de indivíduos adultos com infecção por HIV quando a terapia anti-retroviral é adequada. Esta indicação está baseada na análise dos marcadores laboratoriais dos estudos de até 24 semanas de duração para avaliar pacientes que receberam Sulfato de Indinavir em terapia combinada com outros agentes anti-retrovirais ou em monoterapia. Até o momento, não há resultados dos estudos controlados que avaliam o efeito da terapia com sulfato de indinavir na progressão clínica da infecção por HIV, como sobrevida ou incidência de infecções oportunistas³.

No cenário brasileiro atual, chamam atenção as particularidades marcantes desta nova patologia. O seu comportamento epidemiológico bastante heterogêneo e volátil, a evolução clínica de caráter crônico e multifatorial, exigindo complexas decisões terapêuticas e forte estigma social contra a doença somam-se isso aos antigos problemas do Sistema Único de Saúde (SUS), deficitário pela constante falta e mau gerenciamento dos recursos, o que determina um confronto de grandes desafios científicos, econômicos e sociais.

Os fármacos raras vezes são administrados isoladamente; ao contrário, fazem parte de uma formulação combinada com um ou mais agentes não medicinais, com funções variadas e específicas. Os excipientes são componentes essenciais para as

Introdução

formulações farmacêuticas mais variadas. É de fundamental importância o estudo prévio do fármaco associados aos excipientes para obter produtos estáveis, eficientes, de fácil administração, seguro e terapeuticamente ativo.

A produção das formas farmacêuticas sólidas é destaque na maioria das indústrias farmacêuticas, e quando do descobrimento de um novo fármaco, este é, sempre que possível, lançado no mercado sob esta apresentação. As principais vantagens habitualmente atribuídas às cápsulas em relação às outras formas farmacêuticas são:

- Preparação mais simples;
- Pequena quantidade de excipientes;
- Fabricação a seco;
- Liberação do princípio ativo mais fácil;
- Fabricação fácil a nível magistral;
- Proteção quanto a sabores e/ou odor desagradáveis;
- Proteção do princípio ativo ao oxigênio atmosférico⁴.

Tendo em vista que, no mercado farmacêutico, o Sulfato de Indinavir se encontra produzido por um única indústria farmacêutica (Merck Sharp & Dohme[®]) com o nome comercial CRIXIVAN[®] e que é demasiadamente caro, fez-se necessário o desenvolvimento farmacotécnico-industrial, contemplando os estudos de pré-formulação, teste de bancada e lote experimental, na tentativa de conseguir cápsulas de Sulfato de Indinavir 500 mg (equivalente a 400 mg de Indinavir Base), de baixo custo e de boa qualidade.

Este estudo foi realizado em parceria com o Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e com o Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE). Ainda foi objeto de estudo o desenvolvimento e a validação da metodologia analítica, pelo método cromatográfico de alta eficiência (CLAE) onde foram definidos parâmetros analíticos para o método. Também foi efetuado o estudo comparativo com o medicamento de referência para as cápsulas desenvolvidas e encontra-se em desenvolvimento o estudo de estabilidade, tendo como base a Resolução RE n° 560 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, publicada em 02 de abril de 2002⁵.

2. Justificativa

A introdução de novos agentes anti-retrovirais no mercado tem sido cada vez mais freqüente, fato este que evidencia a constante necessidade de obter agentes terapêuticos mais eficazes e com menores efeitos colaterais. Com o grande número de casos de SIDA no mundo e com a capacidade do vírus em sofrer mutação, nos meados da década de 90 uma nova classe de agentes anti-retrovirais foram desenvolvidos, os inibidores da protease dentre eles destacando-se o Sulfato de Indinavir.

O desenvolvimento de uma forma farmacêutica sólida contendo o Sulfato de Indinavir é de grande importância no cenário terapêutico para o tratamento de SIDA, colocando a disposição da população uma alternativa terapêutica mais econômica e segura.

A realização deste projeto além do sentido científico, tem um cunho social, pois possibilita a aquisição de medicamentos de qualidade e de baixo custo pela sociedade, pois o medicamento será produzido pelo laboratório de referência estadual, Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE), contando com o apoio do Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, do Departamento de Ciências Farmacêuticas, da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

3. Objetivos

3.1. Objetivo Geral

- Desenvolver uma tecnologia de obtenção do anti-retroviral Sulfato de Indinavir na forma farmacêutica cápsulas.

3.2. Objetivos Específicos

- Estudo de pré-formulação (caracterização do princípio ativo, desenvolvimento farmacotécnico e estudo reológico).
- Desenvolvimento e validação da metodologia analítica para a matéria-prima e produto acabado.
- Elaboração da forma farmacêutica sólida cápsulas.

Justificativa e Objetivos

- Transposição de escala de produção.
- Avaliação da estabilidade da forma farmacêutica desenvolvida.
- Estudo comparativo entre as cápsulas desenvolvidas frente ao inovador (produto de referência).

ARTIGO I

O Uso do Sulfato de Indinavir na Terapia Anti-Retroviral

O USO DO SULFATO DE INDINAVIR NA TERAPIA ANTI-RETROVIRAL

Rosali Maria Ferreira da Silva^{1,3}, Fábio Henrique Cavalcanti Oliveira¹, Flávia Patrícia Moraes de Medeiros^{1,3}, João Rui Barbosa de Alencar³, Déborah Bezerra Monteiro^{1,3}, Miracy Muniz de Albuquerque², Pedro José Rolim Neto^{1,3}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária - CEP. 50740-020 - Recife - PE

²Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária - CEP. 50740-020 - Recife - PE

³Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE - Largo de Dois Irmãos, 1117, Dois Irmãos - CEP 52171-010 - Recife – PE

E-mail.: prolim@ufpe.br; rosalimfs@aol.com

Palavras-Chave: Sulfato de Indinavir; Inibidor da protease, Anti-Retrovirais

1. Introdução

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA) foi reconhecida em meados de 1981, nos EUA, com a identificação de um número elevado de pacientes adultos do sexo masculino, homossexuais e moradores de São Francisco ou Nova York, que apresentavam sarcoma de Kaposi, pneumonia por *Pneumocystis carinii* e comprometimento do sistema imune. Concluiu-se que se tratava de uma nova doença de etiologia provavelmente infecciosa e transmissível^{1,11}.

Em 1983, o HIV-1 foi isolado pelos pesquisadores Luc Montaigner, na França, e Robert Gallo, nos EUA, e recebeu os nomes de LAV (*Lymphadenopathy Associated Virus* ou Vírus Associado à Linfadenopatia) e HTLV-III (*Human T-Lymphotropic Virus* ou Vírus T-Linfotrópico Humano tipo III) respectivamente nos dois países. Em 1986, foi identificado um segundo agente etiológico, um retrovírus, com características semelhantes ao HIV-1, denominado HIV-2. Nesse mesmo ano, um comitê internacional recomendou o termo HIV (*Human Immunodeficiency Virus* ou Vírus da Imunodeficiência Humana), reconhecendo-o como capaz de infectar seres humanos¹.

O alvo favorito do HIV é uma célula sangüínea do grupo da linhagem branca T helper (auxiliar) ou célula CD₄. Estas células são importantes na proteção do organismo, funcionando como o principal receptor celular para o HIV, permitindo sua entrada na célula hospedeira, o que explica a depleção de linfócitos TCD₄⁺ na AIDS. Hoje, são conhecidos outros receptores ao HIV, como o co-receptor CCR5 que, quando ausente, poderia dificultar a aderência do vírus à célula hospedeira. O HIV destrói estas células e, quando o número de células CD₄ cai a um certo nível, o sistema imune enfraquece. Como resultado, microorganismos tais como fungos, vírus e parasitos causam infecções oportunistas em portadores do HIV que entram no estágio de SIDA. A doença, portanto, caracteriza-se por pronunciada supressão do sistema imune, levando à exacerbação de diversas infecções oportunistas, principalmente por: citomegalovírus, vírus herpes simples, adenovírus, papovavírus, vírus da hepatite B etc. Os sintomas mais sérios freqüentemente são precedidos por fadiga, mal-estar, perda de peso e febre. Posteriormente, dificuldade respiratória, diarreia crônica e aparecimento de sarcoma de Kaposi (espécie de câncer de pele, caracterizado por lesões que vão desde manchas violáceas até tumores localizados na pele, nas mucosas e órgãos internos)².

O HIV é um retrovírus com genoma RNA (ácido ribonucléico), da família *Lentiviridae*. Pertence ao grupo dos retrovírus citopáticos e não-oncogênicos, uma vez dentro da célula hospedeira, é desencapsulado e incorpora o material do núcleo celular, através da enzima transcriptase reversa, transformando o RNA em DNA (ácido desoxirribonucléico), a partir do qual produz mais proteína viral que se organiza em novos vírus e são liberados da célula por germinação ou morte celular¹.

O ciclo vital do HIV na célula humana está descrito a seguir:

1. Ligação de glicoproteínas virais (gp120) ao receptor específico da superfície celular (principalmente linfócitos TCD₄);
2. Fusão do envelope do vírus com a membrana da célula hospedeira;
3. Liberação do "core" do vírus para o citoplasma da célula hospedeira;
4. Transcrição do RNA viral em DNA complementar, dependente da enzima transcriptase reversa;
5. Transporte do DNA complementar para o núcleo da célula, onde pode haver integração no genoma celular (provírus), dependente da enzima integrase, ou a permanência em forma circular, isoladamente;

6. O provírus é reativado e produz RNA mensageiro viral, indo para o citoplasma da célula;
7. Proteínas virais são produzidas e quebradas em subunidades, por intermédio da enzima protease;
8. As proteínas virais produzidas regulam a síntese de novos genomas virais, e formam a estrutura externa de outros vírus que serão liberados pela célula hospedeira; e
9. O vírion recém-formado é liberado para o meio circundante da célula hospedeira, podendo permanecer no fluído extracelular, ou infectar novas células.

A interferência em qualquer um destes passos do ciclo vital do vírus impede a multiplicação e/ou a liberação de novos vírus. Atualmente estão disponíveis comercialmente drogas que interferem em duas fases deste ciclo: a fase 4 (inibidores da transcriptase reversa) e a fase 7 (inibidores da protease). Existem pesquisas para se conseguir dois outros tipos de inibidores, de integrase e de fusão, que juntos aos já existentes poderão bloquear o vírus HIV em mais fases do seu ciclo de replicação¹.

2. Terapia Anti-Retroviral

A compreensão progressiva sobre a dinâmica viral e celular, e o melhor conhecimento dos mecanismos de ação farmacológica e de resistência aos medicamentos anti-retrovirais têm permitido substanciais avanços no controle clínico da imunodeficiência causada pelo HIV. Entretanto, a terapia anti-retroviral (TARV) é um campo extremamente complexo e dinâmico e, apesar dos muitos avanços ocorridos nos últimos anos, questões importantes com o uso de novas drogas, estratégias de tratamento e manejo dos efeitos colaterais de longo prazo, ainda carecem de estudos para permitir a sua utilização de forma mais ampla na prática clínica diária com eficácia e segurança¹⁴.

A abordagem clínico-terapêutica da infecção pelo HIV e suas complicações tem se tornado cada vez mais complexa nos últimos anos. Com o advento da terapia anti-retroviral potente, as manifestações clínicas da infecção pelo HIV tornaram-se menos frequentes e houve melhora substancial do prognóstico e da qualidade de vida dos indivíduos infectados. Entretanto, a resistência viral, a toxicidade das drogas atualmente disponíveis e a necessidade de alta adesão ao tratamento ainda permanecem como um importante problema, devendo os benefícios e os riscos serem cuidadosamente avaliados na decisão terapêutica¹⁴.

O principal objetivo da terapia anti-retroviral é retardar a progressão da imunodeficiência e/ou restaurar, tanto quanto possível, a imunidade, aumentando o tempo e a qualidade de vida da pessoa infectada. Entretanto, a evolução natural da infecção pelo HIV caracteriza-se por intensa e contínua replicação viral em diversos compartimentos celulares e anatômicos, que resulta, principalmente, na destruição e/ou disfunção de células TCD₄⁺ e de outras células do sistema imune. A depleção progressiva do *pool* de células TCD₄⁺, em conjunto com outras alterações quantitativas e qualitativas do sistema imune, leva à imunodeficiência, que em sua forma mais grave manifesta-se por meio da ocorrência de infecções oportunistas e neoplasias que caracterizam a SIDA. Dessa forma, a supressão intensa e continuada da replicação viral é fundamental para que seja possível diminuir ou reverter o dano imunológico¹⁴.

O tratamento anti-retroviral está indicado para pacientes HIV+ sintomáticos ou assintomáticos que apresentam contagem de células TCD₄⁺ abaixo de 200 células/mm³. Quando o paciente assintomático apresenta contagem de células TCD₄⁺ entre 200 e 350 células/mm³, o início da TARV pode ser considerado conforme a evolução dos parâmetros imunológicos (contagem de células TCD₄⁺), virológicos (carga viral) e outras características do paciente (motivação, capacidade de adesão, outras co-morbidades), sendo necessária a sua monitorização mais freqüente para a tomada da decisão¹⁴.

3. Quando iniciar a terapia anti-retroviral

Além da avaliação clínica, a contagem de células TCD₄⁺ (em valores percentuais e absolutos) e a medida da carga viral plasmática (em cópias/mL) e a sua variação (em valor logarítmico) são parâmetros fundamentais a serem considerados para a decisão de iniciar ou não o tratamento. A carga viral e a contagem de células TCD₄⁺ não devem ser verificadas antes de três a quatro semanas após a resolução de qualquer infecção intercorrente ou vacinação, pois, nessas situações, pode ocorrer alteração transitória das mesmas¹⁴.

Para pacientes assintomáticos com contagem de células TCD₄⁺ entre 200 e 350 células/mm³, o tratamento pode ser considerado, mas muitos especialistas preferem não iniciar o tratamento anti-retroviral e apenas acompanhar a sua evolução clínica e laboratorial, reservando o tratamento para aqueles que apresentam piora clínica, imunológica ou virológica. Os pacientes nessa situação devem ser monitorados clínica e laboratorialmente, em intervalos curtos (no mínimo 3 vezes ao ano), para que o tratamento possa ser iniciado se ocorrer piora imunológica, ou seja, queda significativa da contagem de células TCD₄⁺

(variação > 25% do valor absoluto e/ou 3% do valor percentual entre contagens seriadas). Na impossibilidade de um monitoramento freqüente da contagem de células TCD₄⁺, o tratamento deve ser iniciado. Além disso, quanto mais próxima de 200 células/mm³ for a contagem de células TCD₄⁺ e/ou maior a carga viral plasmática (particularmente se ≥ 100.000 cópias), mais forte será a indicação para ser iniciada a terapia anti-retroviral. O tratamento não está indicado para pacientes com contagem de células TCD₄⁺ >350 células/mm³, pois não há comprovação do benefício da terapia anti-retroviral para este número de células¹⁴.

Em situações excepcionais, na impossibilidade de realização do exame de contagem de células TCD₄⁺, a introdução de terapia anti-retroviral (e de quimioprofilaxias) deve ser considerada para pacientes assintomáticos com menos de 1.000 linfócitos totais/mm³, especialmente se a dosagem de hemoglobina estiver abaixo de 13g/dL, pela grande probabilidade de contagem de células TCD₄⁺ ser menor que 200 células/mm³¹⁴.

A decisão quanto ao esquema a ser utilizado na terapia inicial deverá ser feita de forma individualizada, baseando-se nos parâmetros clínicos, laboratoriais e farmacológicos das drogas anti-retrovirais disponíveis. A terapia inicial geralmente é composta por 2 inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo (ITRN), associado a um inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo (ITRNN) ou a um inibidor da protease (IP)¹⁴.

Na escolha da combinação de análogos de nucleosídeo para compor o esquema anti-retroviral potente, estão recomendadas associações Zidovudina/Lamivudina, Zidovudina/Didanosina, Estavudina/Lamivudina e Estavudina/Didanosina, as quais foram largamente avaliadas em ensaios clínicos e são equivalentes entre si do ponto de vista de eficácia virológica. A associação Lamivudina/Didanosina, apesar de virológicamente efetiva, foi pouco avaliada em ensaios clínicos controlados¹⁴.

Não há dados que permitam escolher entre esquemas triplos com 2 ITRN + ITRNN ou 2 ITRN + IP. Alguns especialistas sugerem que seja utilizado IP para a terapia inicial de pacientes com contagem de células TCD₄⁺ < 200 células/mm³, pela maior experiência com essa classe de medicamentos. Entretanto, o uso de IP ou ITRNN na composição do esquema anti-retroviral pode apresentar vantagens e desvantagens, conforme os hábitos de vida do paciente, a presença de co-morbidades e o uso de outros medicamentos¹⁴.

4. Inibidores da Protease

Inibidores da Protease são drogas que agem no último estágio da formação do HIV, impedindo a ação da enzima protease, que é fundamental para a clivagem das cadeias protéicas produzidas pela célula infectada, em proteínas virais estruturais e enzimas que formarão cada partícula do HIV. Atualmente, estão disponíveis comercialmente 5 Inibidores da Protease: Sulfato de Indinavir, Ritonavir, Saquinavir, Nelfinavir e Amprenavir^{6,13}.

Os Inibidores da Protease são bem tolerados e apresentam uma larga atividade terapêutica¹⁶.

5. Sulfato de Indinavir

O Sulfato de Indinavir (IDV) é um pó branco, higroscópico, com uma fórmula molecular $C_{36}H_{47}N_5O_4 \cdot H_2SO_4$ e um peso molecular de 711,88. É muito solúvel em água e em metanol e está no mercado se apresentando na forma farmacêutica cápsula gelatinosa dura. É fabricado pela indústria farmacêutica Merck Sharp & Dohme com o nome comercial de CRIXIVAN^{®16}.

A dose recomendada do Sulfato de Indinavir é de 800 mg (2 cápsulas de 400 mg) por via oral a cada 8 horas. A dose é a mesma na utilização tanto em monoterapia como em terapia combinada com outros agentes antiretrovirais, devendo ser reduzida para 600 mg a cada 8 horas em pacientes com insuficiência hepática leve a moderada, devido à cirrose⁷.

Estudos em animais têm demonstrado boa disponibilidade oral (13 a 70%), baixo índice de efeitos colaterais no início do tratamento e alta potência antiviral *in vivo*⁹. O Sulfato de Indinavir apresenta uma meia-vida plasmática de 1,5 a 2 horas¹⁶.

Os efeitos adversos mais frequentes são nefrolitíase, atrofia renal, hipertensão arterial, distúrbios do paladar, cefaléia, insônia, alopecia, alteração dos pêlos e unhas, dor abdominal, vômitos, fadiga, diabetes, hipercolesterolemia¹⁶.

Um pequeno estudo realizado com 5 pacientes, avaliando Indinavir 600 mg em quatro tempos diários como monoterapia, apresentou uma diminuição significativa na carga viral de 1,55 log, com uma diminuição de 0,64 log em 24 semanas, apresentando também um aumento significativo nas células CD4+ de 143 células/mm³ acima da linha basal⁷.

A combinação do Indinavir com análogos nucleosídeos dos Inibidores da Transcriptase Reversa é superior à monoterapia. Estudos com a terapia combinada de Indinavir com Zidovudina e Lamivudina resultou num declínio médio de 2,2 log no RNA viral em 24 semanas que persistiram durante 44 semanas. Em 5 dos 6 pacientes que receberam a

combinação das três drogas, a carga viral permaneceu abaixo dos níveis detectáveis (500 cópias/mL) em 44 semanas. Comparando inicialmente a combinação das três drogas, em somente 2 dos 9 pacientes que receberam apenas Indinavir e nenhum dos 8 pacientes que receberam Zidovudina e Lamivudina, a carga viral permaneceu abaixo dos níveis detectáveis em 44 semanas⁷.

Uma tendência para obter uma melhor supressão viral de longa duração foi observado num grupo recebendo Zidovudina e Indinavir. Estes pacientes mantiveram uma redução de 1,19 log na carga viral em 24 semanas, versus uma diminuição de 1,03 log em pacientes recebendo apenas Indinavir^{6, 10, 12}.

Deve-se ajustar as doses do Sulfato de Indinavir ao co-administrá-lo com Didanosina, Efavirenz e Nevirapina, devido à diminuição da absorção do IDV, e com Delavirdine e Ritonavir, por ocorrer aumento da absorção do IDV¹⁴.

6. Conclusão

A introdução de novos medicamentos e novas estratégias no tratamento da SIDA tem modificado o panorama evolucionar e as perspectivas dos portadores da doença.

Com o surgimento dos Inibidores da Protease e com a constatação de bons resultados nos pacientes em várias fases do tratamento, inclusive nas mais avançadas, a esperança aumentou, e as perspectivas de sobrevivência com qualidade tornou-se uma realidade. Há uma nova esperança de vida e de saúde para muitos portadores.

O uso de um ou mais inibidores da protease juntamente com outros agentes antiretrovirais é necessário para diminuir ou prevenir o desenvolvimento de resistência e subsequente falha no tratamento.

A terapia anti-retroviral é uma área complexa, sujeita a constantes mudanças. As recomendações deverão ser revistas periodicamente, com o objetivo de incorporar novos conhecimentos gerados pelos ensaios clínicos.

Esta revisão técnica-científica suportou nosso interesse no desenvolvimento farmacotécnico-industrial de Indinavir na forma cápsula para ampliar o portfólio na produção pública de medicamentos anti-retrovirais.

7. Referências Bibliográficas:

1. AIDS. Etiologia, clínica, diagnóstico e tratamento. Disponível em: <<http://br.geocities.com/crvasco2001/webdoc1.htm>>. Acesso em: 10 abr. 2002.
2. Medicamentos e Tratamentos. Disponível em: <<http://members.ncbi.com/GIVONG/Pagina5.htm>>. Acesso em: 10 abr. 2002.
3. Os novos tratamentos para a AIDS. Disponível em: <<http://www.medpress.med.br/art/aids2.htm>>. Acesso em: 10 abr. 2002.
4. PRADO, F. C.; RAMOS, J.; VALLE, J. R. **Atualização Terapêutica** - 20ª edição. São Paulo: Editora Artes Médicas, 2001.
5. Medicamentos Anti-retrovirais do LAFEPE. Histórico do LAFEPE. Disponível em: <<http://www.fisepe.pe.gov.br/lafepe/lfhist.htm>>. Acesso em: 10 abr. 2002.
6. DEEKS, S. G.; SMITH, M.; HOLODNLY, M.; KAHN, J. O. **HIV-1 Protease Inhibitors**. The Journal of the American Medical Association. January 8, vol 277, nº 2, 1997, p. 145-153.
7. LEWIS, J. S. et al. **Protease Inhibitors: A Therapeutic Breakthrough for the Treatment of Patients with Human Immunodeficiency Virus**. Clinical Therapeutics. The International Journal of Drug Therapy, vol 19, 1997, nº 2, p. 187-214.
8. BARRY M.; GIBBONS S.; BACK D. **Protease Inhibitors in Patients with HIV Disease. Clinically Important Pharmacokinetic Considerations**. Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Relationships. Clinical Pharmacokinetics, 1997 Mar: 32 (3), p. 194-209.
9. MATHEZ D.; BAGNARELLI P.; DE TRUCHIS P. et al. **A triple combination of ritonavir+AZT+ddC as a first line treatment of patients with AIDS**. Update In: Program and Abstracts of the XI International Conference on AIDS; July 7-12, Vancouver: 1996. British Columbia Abstract Mo. B. 175.
10. LEWIS, D. S. et al. **Randomized, double-blind trial comparing Indinavir alone, Zidovudine alone and Indinavir plus Zidovudine in antiretroviral therapy-naive HIV-infected individuals with CD₄ cell counts between 50 and 250/mm³**. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, 2002, ISSN 0036-4665.

11. OLIVEIRA, M. A.; SANTOS, E. M.; MELLO, J. M. C. **AIDS, ativismo e regulação de ensaios clínicos no Brasil: o Protocolo 028.** Cadernos de Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública. Fundação Oswaldo Cruz, 2002.
12. HAMMER, S. M. **Advances in antiretroviral therapy and viral load monitoring.** **AIDS - An International Monthly Journal**, vol. 10, 1996, 3 supplement: 51-511.
13. McDONALD, C. K., KURITZKES, D. R. **Human Immunodeficiency Virus Type 1 Protease Inhibitors.** Archives of International Medicine, vol. 157, 1997, may 12, p. 951-959.
14. TEIXEIRA, P. R., CAPITANI, C. M., SUDO, E. C., LIMA, J. N., VITÓRIA, M. A. A. **Recomendações para Terapia Anti-Retroviral em Adultos e Adolescentes Infectados pelo HIV – Ministério da Saúde**, 2001, p. 01-29.
15. MEARLY, N. **Indinavir Sulfate.** Anti-HIV. HIV-1 Protease Inhibitor. Drugs of the Future, 1996, p. 600-609.
16. DEEKS, G. S. et al. **HIV-1 Protease Inhibitors.** A review for Clinicians. The Journal of the American Medical Association. January 8, , vol. 277, 1997, nº 2, p. 145-153.

ARTIGO II

**Caracterização do Sulfato de Indinavir
para Certificação dos Fornecedores na
Produção de Anti-Retrovirais**

CARACTERIZAÇÃO DO SULFATO DE INDINAVIR PARA A CERTIFICAÇÃO DOS FORNECEDORES NA PRODUÇÃO DE ANTI-RETROVIRAIS

Rosali Maria Ferreira da Silva^{1,4}; Fábio Henrique Cavalcanti de Oliveira¹; Ruth Riesinger Sttratmann², Flávia Patrícia Moraes de Medeiros^{1,4}, Ticiano Gomes do Nascimento³, Rui O. Macedo³, Miracy M. de Albuquerque²; Pedro J. Rolim Neto^{1,4}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE – Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária - CEP. 50740-020 - Recife - PE

²Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária - CEP. 50740-020 - Recife - PE

³Unidade de Desenvolvimento e Estudo de Medicamentos - UFPB

⁴Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE - Largo de Dois Irmãos, 1117, Dois Irmãos - CEP 52171-010 - Recife – PE

E-mail: prolim@ufpe.br; rosalimfs@aol.com

Palavras-Chave: Sulfato de Indinavir; Controle de Qualidade; DSC-fotovisual.

1. Introdução

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)¹. 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, um inibidor da protease, no ciclo do vírus da imunodeficiência humana (HIV), realizando as análises de controle de qualidade físico-químicos 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.

2. Materiais e Métodos

Neste estudo, foram utilizadas como matérias-primas: padrão de trabalho Sulfato de Indinavir do Fabricante A (Hetero Drugs Ltda[®]); padrão de trabalho Sulfato de Indinavir do Fabricante B (Xiamen Mchem[®]); Sulfato de Indinavir do Fabricante A (Hetero Drugs Ltda[®], Lote: IS1871201); Sulfato de Indinavir do Fabricante B (Xiamen Mchem[®], Lote: IDV011108); Sulfato de Indinavir do Fabricante C (Aurobindo Pharma Ltda[®], Lote: IS-054022002).

2.1. Controle de Qualidade Físico-Químico

Baseado nas metodologias analíticas para matéria-prima, contidas no Drug Master File (DMF) dos fabricantes Hetero Drugs Ltda[®] e Xiamen Mchem[®], 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)¹².

Na solubilidade, os solventes testados foram a 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[®]).

O doseamento foi realizado em CLAE (SHIMADZU[®]), com coluna C8 (Symmetry Waters[®]), 250 x 4,6 mm, 5µm; acetonitrila 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[®]).

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)^{8,9,10,11}.

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 tamizes (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 (Assistant[®]); 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[®]).

2.2. *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%.

A curva TG do Sulfato de Indinavir foi obtida numa termobalança Shimadzu[®], modelo 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%^{2,3,4,5,6,7}.

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.

3. Resultados e Discussão

3.1. Controle de Qualidade Físico-Químico

Os resultados das matérias-primas dos fornecedores testados estão descritos na tabela 01.

Tabela 01: Resultados do Controle de Qualidade Físico-Químico

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.

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

O espectro de absorção por infravermelho na amostra finamente moída em KBr comprimido em um disco exibiu o máximo nos mesmos comprimentos de onda que o preparado similar do padrão de trabalho do Sulfato de Indinavir (ANEXO).

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.

A varredura espectrofotométrica, com a solução padrão e a solução amostra exibiram o valor máximo de absorvância a 260 nm.

Para o fabricante C não foi realizado o controle físico-químico devido à quantidade insuficiente de amostra.

As distribuições granulométricas das matérias-primas dos fabricantes A e B apresentam diferentes comportamentos (Figura 01). 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.

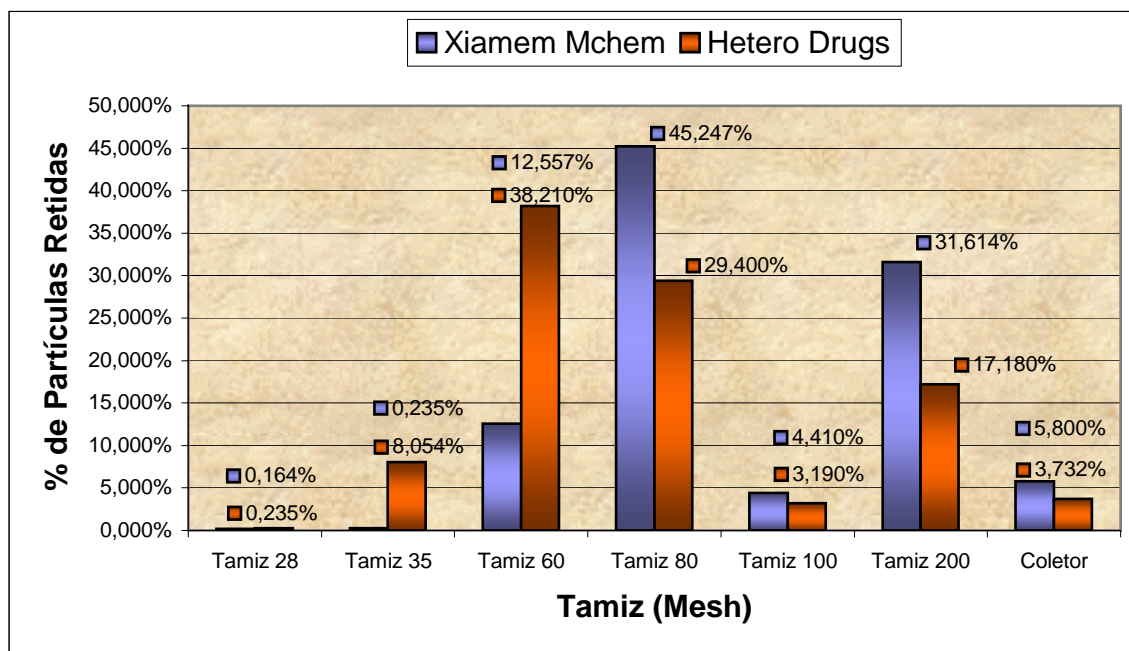


Figura 01: Estudo de granulometria dos Fabricantes A (Hetero Drugs[®]) e B (Xiamen Mchem[®]).

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.

3.2. 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.

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

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 02).

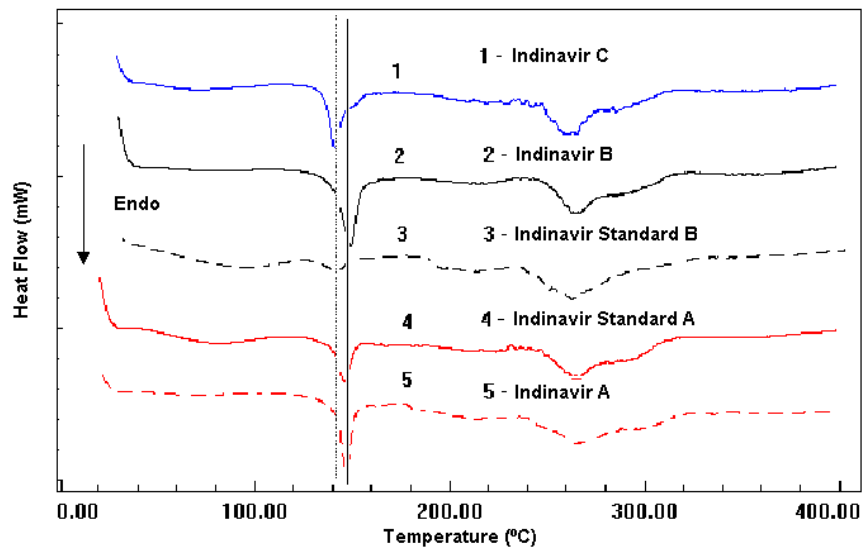


Figura 02: Curvas DSC de padrões e matérias-primas para Sulfato de Indinavir.

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 03), diferenciando-se do comportamento apresentado pelo padrão B e da matéria-prima C (Figura 04).

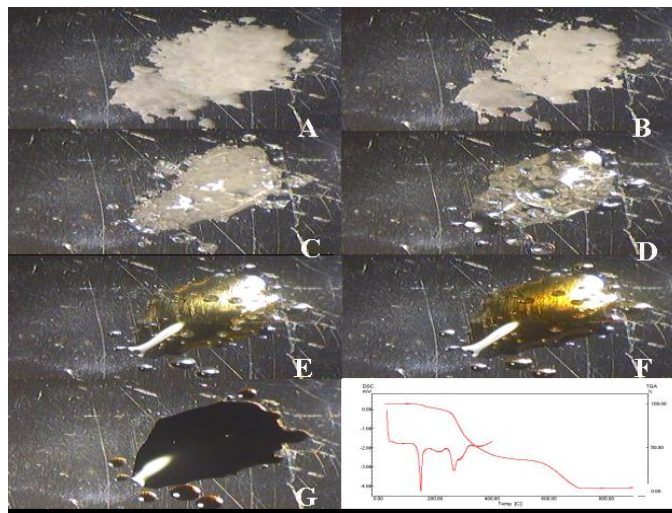


Figura 03: Fotos A (25°C), B (142°C), C (151°C), D (160°C), E (165°C), F (190°C), G (230°C), H (Curvas TG/DSC) da matéria-prima B.

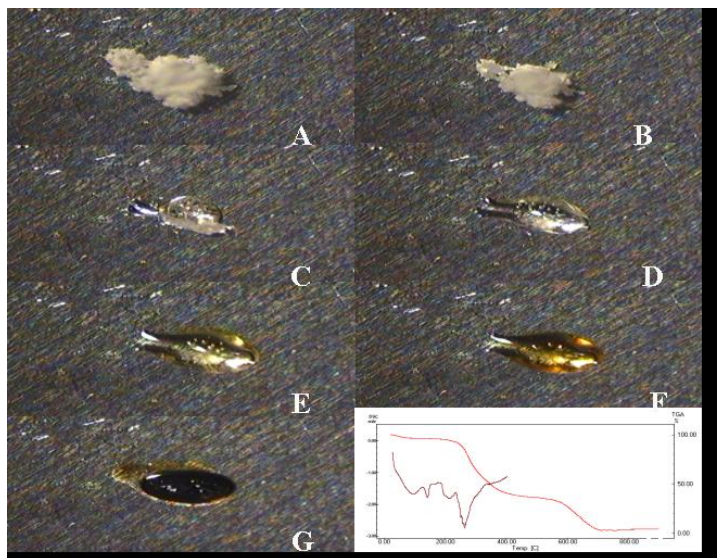


Figura 04: Fotos A (25°C), B (142°C), C (151°C), D (160°C), E (165°C), F (190°C), G (230°C), H (Curvas TG/DSC) do padrão B.

4. Conclusão

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.

5. Referências Bibliográficas

1. BRASIL, Resolução RDC n° 210, de 04 de Agosto de 2003 (DOU 14/08/03) - **Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
2. GIRON, D. **Applications of Thermal Analysis in the Pharmaceutical Industry.** Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis, vol. 4, 1986, n° 6,. p. 755 – 770,
3. MACÊDO, R. O. *An. Assoc. Bras. Quim.*, 47(4),1998 313-315.

4. ARAGÃO, C.F. S.; MACÊDO, R. O.; DO-NASCIMENTO, T. G e MACÊDO, A. M. *C. J. Therm. Anal. Cal.*, 56 (1999) 1323-1327.
5. MACÊDO, R. O.; ARAGÃO, C. F. S.; DO-NASCIMENTO, T. G e GOMES, A. P. *B. J. Therm. Anal. Cal.*, 59 (2000) 657-661.
6. ARAGÃO, C. F. S.; MACÊDO, R. O. & BARBOSA-FILHO, J. M. *J. Therm. Anal. Cal.*, 64 (2001) 185-191.
7. MACÊDO, R. O.; ARAGÃO, C. F. S.; DO-NASCIMENTO, T. G e MEDEIROS, A. C. D. *Revista Brasileira de Alimentos*, 06(jan/jun) (1998) 5-11.
8. TAVARES, M.F.M. **Química Nova**, 19, 173 (1996).
9. TAVARES, M.F.M. **Química Nova**, 20, 493 (1997).
10. LANDERS, J. P. **Handbook of High Performance Capillary Electrophoresis**; CRC Press (1993).
11. MENDHAM, J. et al. **Vogel. Análise Química Quantitativa**. 6ªedição. Rio de Janeiro. Livros Técnicos e Científicos Editora S. A., 2002, p. 134-136.
12. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 25ed. Rockville: The United Pharmacopeia Convencional, 2001.

ARTIGO III

Thermal Characterization of Two Solvates Forms of Indinavir Sulfate Using TG, DSC and DSC-Photovisual

* Artigo Submetido para Publicação na Revista
Thermochimica Acta

THERMAL CHARACTERIZATION OF TWO SOLVATES FORMS OF INDINAVIR SULFATE USING TG, DSC AND DSC-PHOTOVISUAL

Rui Oliveira Macêdo*¹, Ticiano Gomes do Nascimento¹, José Wollace E. Veras¹,
Rosali M. F. Silva², Juliana S. Alencar² and Pedro José Rolim Neto^{2,3}

¹ UDEM / LTF / UFPB, Cidade Universitária - Campus I - João Pessoa – PB – Brazil,
Zipcode: 58051-970, Phone / Fax : +55 83 216 7371 - E-mail: ruimacedo@ltf.ufpb.br

² UFPE / DCF, Cidade Universitária – Recife- PE - Brazil, Zipcode : 50740 521,

³ Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE, Largo de Dois Irmãos 1117,
Recife – PE – Brazil, Zipcode: 52171 010

ABSTRACT

Indinavir sulfate has been used as an HIV protease inhibitor and is commonly associated to other drugs in anti-AIDS cocktails. The purpose of this paper was to study the thermal characteristics of Indinavir Sulfate (IS) by thermal analysis techniques and to evaluate the quality of its raw materials. The standards A and B and raw materials A, B and C were acquired from three suppliers. The DSC curves of Indinavir sulfate presented endothermic peaks at different temperatures of fusion which suggests two pseudo-polimorphic forms for indinavir sulfate. DSC-photovisual confirmed this process. TG curves demonstrated different water contents in temperatures ranging from 25-117°C. The standard B and raw material C showed different hydration degree from standard A and raw materials A and B. The presence of a sulfate group in the indinavir molecule has caused the formation of two types of solvates with changes in the peak of fusion. The presence of different water amount and sulfate unoccupied sites in indinavir molecule can alter the thermal properties of this drug. This difference in physicochemical properties can have consequences in the solubility and bioavailability of the drug substance.

Keywords: Indinavir, DSC-Photovisual, TG, pseudo-polymorphism, and quality of raw material

1 - Introduction

Indinavir sulfate has been used as an HIV protease inhibitor and has been associated to other drugs such as lamivudine and zidovudine in anti-AIDS cocktails. This therapy is often monitored to evaluate the possibility of toxicological risks to patients, adverse reaction and interactions with foodstuffs products [1]. The quality of indinavir raw materials and its related compounds must be monitored by pharmaceuticals industries to minimize these adverse effects.

Thermal analysis have been used in the development of solid pharmaceutical forms [2, 3, 4 and 5], impurity profiling of raw materials [6 and 7], characterization of phytopharmaceuticals [8, 9 and 10] and investigation of polymorphism and pseudo polymorphism in pharmaceuticals [11 and 12].

The polymorphic, pseudo-polymorphic and amorphous forms are common in pharmaceuticals and these solid states can affect the melting point, heat capacity, volume, density, solubility, dissolution rate and the bioavailability of drugs [13].

Particularly, pseudo-polymorphic forms can develop in pharmaceuticals after long storage times, grinding, milling and tableting process [14]. Accurate quality control of raw materials is necessary to ensure the batch-to-batch quality of pharmaceutical products, and DSC and TG have been used for this purpose. The aim of this work was to identify and characterize the indinavir solvates and to identify useful thermal analytical parameters for this characterization.

2 - Experimental

2.1 - Indinavir Samples

The samples of indinavir sulfate drug substance were obtained by LAFEPE from three different suppliers and submitted to thermal analysis studies without previous treatment.

2.2 – Thermogravimetry Analysis

The TG curves were performed in a Shimadzu thermobalance, model TGA-50H, with a heating rate of $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, under air atmosphere and with a temperature range of 25-900°C.

The sample ($5.00\text{mg} \pm 10\%$) was placed in an α -alumina cell. The TG instrument was calibrated using calcium oxalate monohydrate.

2.3 – Differential Scanning Calorimetry coupled to Photovisual System

The DSC curves of IS were performed in a Shimadzu calorimeter, model DSC-50, coupled to a photovisual system which is constituted of an Olympus microscopy connected to a Sanyo camera, model VCC-D520 with heating rates of 5, 10, 15 and $20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, under nitrogen atmosphere and a temperature range of $25\text{--}400^{\circ}\text{C}$. The samples ($2.00\text{ mg} \pm 10\%$) were packed in an aluminum cell. The cell was sealed hermetically. The temperature and heat flow of the DSC instrument were calibrated by the melting point and enthalpy of indium and zinc standards.

3 - Results and Discussion

3.1 - Thermogravimetry

The TG profiles of indinavir sulfate were similar for all samples. The samples presented three steps of mass loss (Table 1) (ATTACHED). The only difference that was found between samples was in the temperature range of lost humidity. Table 1 shows the percentage of mass loss for indinavir sulfate raw materials and standards.

The data from Table 1 show differences in the loss of mass between the raw materials and standards. The raw material C presented an additional desolvation of about 45% in relation to other raw materials while Standard B presented a desolvation of 35% in relation to standard A. This increase in higroscopicity suggests a presence of other solvation sites which can result in differences related to the solubility of indinavir sulfate.

The second and third steps of mass loss can correspond to decomposition with sulfide liberation. Stoichiometrically, one mol of indinavir sulfate corresponds to 13.8% of mass loss. The decomposition of sulfate in the samples presented the following increasing order: Indinavir C > standard A > standard B > Indinavir A > Indinavir B.

3.2 – Differential Scanning Calorimetry

Indinavir sulfate drug substance was characterized using calorimetric analysis and presented a melting point at 150-153°C in accordance to values reported in the literature [15]. We have detected a little shoulder after melting point transition. This small transition can be attributed to the sulfate decomposition in indinavir molecule. Figure 1 shows this process in a heating rate of 10°C/min (ATTACHED).

This process was detected in all batches in heating rates of 5 and 10°C/min., but undetected in heating rates of 15 and 20°C/min., probably due to an increase in the heat flow gradient. The heating rate has been an important parameter to evaluate other phenomena in this drug such as the pseudo-polymorphism process. Figure 2 shows the DSC curves of indinavir at 15°C/min (ATTACHED).

The DSC curves of indinavir sulfate presented endothermic peaks in different temperatures of fusion at 10°C/min. The raw materials A, B and C presented peaks of fusion and heats of fusion of 147.2°C; -62.0 J/g, 149.3°C; -63.7 J/g and 141.3°C; -54.4 J/g respectively, while the standards A and B presented peaks of fusion and heats of fusion of 146.2°C; -35.8 J/g and 142.0°C; -21.3 J/g, respectively. The vertical dotted and solid lines in Figure 3 indicates the temperature range of fusion for the two pseudo-polimorphic forms of indinavir sulfate. The standard B and raw material C show different peaks of fusion from standard A and raw materials A and B (Figure 3) (ATTACHED).

The temperature and endothermic peak of higroscopicity were calculated for indinavir A, B, C and standards A and B with the following values: 71.4°C, -8.14 J/g; 76.5°C, -8.16 J/g; 73.7°C, -24.55 J/g; 82.1°C, -41.7 J/g; 95.8°C, -61.8 J/g, respectively. These endothermic peaks corresponded to ethanol volatilization in raw materials and an eutetic mixture of ethanol:water in standards [15]. Probably this water has been acquired during recrystallization in the synthesis process or due to storage conditions. This data together with those presented in Table 1 has demonstrated the importance of evaluating the water percentage in different solvate forms of indinavir sulfate drug substance(Figure 1).

There was correlation between the percentage of mass loss as calculated from TG curves and the range of melting point in the DSC curves for the different indinavir samples. The thermogravimetry data (Table I) were coherent with DSC data (Figure 1) where can be observed that indinavir C raw material lost higher mass amount than standards and other raw materials in the TG data. Similarly, indinavir C raw material presented lower melting point than other indinavir raw materials and standards A and B. Indinavir B with lower mass loss in

first decomposition step presented melting point in 149.3 °C and comparable to the literature (150-153°C) [15], while indinavir C showed fusion peak in 141.3°C indicating poor quality of raw material. The DSC and TG studies show that indinavir raw materials with higher mass loss in the first step present lower temperature of fusion.

The different solvation processes cannot be influenced by humidity but others factors such as crystallization temperature, different kind solvent of crystallization, storage temperature, tableting and impurities may be involved [13, 16, 17 and 18].

In the light of modern molecular and crystal structure studies it has been showed that two betaine molecules occupy the same hydration site but differ with regard to the orientation of the carboxylate and ammonium groups [19]. Solid state behavior have demonstrated that nonstoichiometric water content in cromolyn sodium can be attributed to water molecules which are associated with two unoccupied sodium sites in molecule [18].

3.3 - DSC coupled to a Photovisual System

The analysis by DSC coupled to a Photovisual System has confirmed the sulfate decomposition in molecule as can be seen by the evolution of gas (Figure 4 – photos B₃ and C₃). The DSC Photovisual has evidenced differences in the thermal behavior of indinavir samples. In spite of the analyses had been performed in open cell some differences were detected between raw materials. Raw materials A and B presented total fusion at 160°C, different from sample C (Figure 4 – Photos B₃, C₃ and A₃, respectively). The raw material C presented characteristics of insoluble material in air conditions and very different from nitrogen conditions. Similarly this process has occurred in standard B (Figure 4 – Photo E₂) (ATTACHED). This standard presented incomplete fusion process at 150°C different from standard A.

Formation of two sorts of solvates with changes in the peak of fusion and melting point have occurred in indinavir. The presence of different water amount and sulfate unoccupied sites in indinavir molecule can alter the thermal properties of this drug. This differences in physicochemical properties can have consequences in solubility and bioavailability of drug.

4 - Conclusion

DSC and TG data have demonstrated the presence of two types of solvates in indinavir sulfate drug substance. Indinavir C and standard B may represent a solvation form which differs from indinavir A, B and standard A.

DSC photovisual has demonstrated differences in the melting point which can cause differences in solubility of indinavir drug.

The thermal analysis data have proved to be a versatile tool to differentiate the indinavir sulfate solvates forms.

5 - References

- [1] S. G. Deeks M. Smith, M. Holodnly, J. O. Kahn, J. Am. Med. Assoc., 277 (1997) 145-153.
- [2] R. O. Macêdo, T. G. Do Nascimento and J. W. E. Veras, J. Therm. Anal. Calorim., 67 (2002) 483-489.
- [3] R. O. Macêdo, T. G. Do Nascimento and J. W. E. Veras, J. Therm. Anal. Calorim., 64 (2001) 757-763.
- [4] R. O. Macedo, F. S. De Souza and J. W. E Veras, Thermochim. Acta, 392: 99-106, 2002.
- [5] R. O. Macedo, A. P. Barreto Gomes and F. S. De Souza, J. Therm. Anal. Calorim., 64 (2001) 739-743.
- [6] R. O. Macedo and Nascimento T. G., Thermochim. Acta, 392 (2002) 85-92.
- [7] R. O. Macedo, T. G. do Nascimento and A. P. Barreto Gomes, J. Therm. Anal. Calorim., 59 (2000) 657-661.
- [8] R. O. Macêdo, J. M. B. Filho, E. M da Costa and T. G. do Nascimento, Thermochim. Acta, 392 (2002) 79-84.
- [9] C. F. S. Aragão, R. O. Macêdo, J. M. B. Filho, J. Therm. Anal. Calorim., 64 (2001) 185-191.
- [10] A. C. D De Medeiros., I. A. De Medeiros and R. O. Macedo, Thermochim. Acta, 392 (2002) 93-98.
- [11] De Medeiros ACD, De Cervantes NAB, Gomes APB, R. O Macedo, J. Therm. Anal. Calorim., 64 (2001) 745-750.
- [12] D. Giron, Thermochim. Acta, 248 (1995) 1-49.
- [13] D. Giron, S. T. P. Pharma, 4 (1988) 330.

- [14] J. L. Ford & P. Timmins, Pharmaceutical Thermal Analysis, Ellis Horwood, Chichester, 1989.
- [15] The Merck Index, 12th edition, Whitehouse Station, N.J. 1996
- [16] H. Ando, M. Ishii, M. Kayano and H. Ozawa, Drug Dev. Ind. Pharm., 18 (1992) 453.
- [17] Do Nascimento T.G., J. D. C. Borba and R.O. Macedo, XXI Natas, FL, 2001.
- [18] L. R. Chen, V. G. Young, D. Lechuga-Ballesteros and D.J.W. Grant, J. Pharm. Sci., 88 (1999) 1191-1200.
- [19] D-D. Wu and T. C. W. Mak, J. Mol. Struct., 372 (1995) 187-193.

ARTIGO IV

**Desenvolvimento e Validação da Metodologia
Analítica para Doseamento da Matéria-Prima e de
Cápsulas de Sulfato de Indinavir por Cromatografia
Líquida de Alta Eficiência**

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DOSEAMENTO DA MATÉRIA-PRIMA E DE CÁPSULAS DE SULFATO DE INDINAVIR POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

Rosali Maria Ferreira da Silva^{1,4}; Fábio Henrique Cavalcanti de Oliveira¹; Ruth Riesinger Stratmann², Maria Fernanda Pimentel³, Flávia Patrícia Morais de Medeiros^{1,4}, Miracy Muniz de Albuquerque²; Pedro José Rolim Neto^{1,4}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária - CEP. 50740-020 - Recife - PE

²Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária - CEP. 50740-020 - Recife - PE

³Departamento de Engenharia Química – UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária - CEP. 50740-020 - Recife - PE

⁴Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE - Largo de Dois Irmãos, 1117, Dois Irmãos - CEP 52171-010 - Recife – PE

E-mail: prolim@ufpe.br; rosalimfs@aol.com

Palavras-Chave: Sulfato de Indinavir; Validação; CLAE.

1. Introdução

Durante o processo de desenvolvimento do fármaco, a validação de método analítico é realizada para garantir que o mesmo seja exato, específico e reprodutível dentro da variação especificada na qual a substância em exame será analisada. Conforme a definição existente na USP, a validação de métodos assegura a credibilidade destes durante o uso rotineiro, sendo algumas vezes mencionado como “o processo que fornece uma evidência documentada de que o método realiza aquilo para o qual é indicado para fazer”¹. Os laboratórios de análise devem realizar a validação de métodos para atender ao governo ou a outros órgãos regulamentadores sendo que os dados obtidos devem fazer parte do conjunto de informações que será apresentado a agências como o FDA².

O Sulfato de Indinavir é um anti-retroviral, inibidor da enzima protease, que atenderá aos requisitos do Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) em compor o coquetel anti-SIDA.

O objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar uma metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência para o doseamento da matéria-prima e das cápsulas de Sulfato de Indinavir 500 mg (400 mg de Indinavir).

2. Materiais e Métodos

No desenvolvimento e validação da metodologia analítica para matéria-prima foi utilizado o Sulfato de Indinavir compactado (Fabricante Hetero Drugs[®], Lote: IS 1501202) o qual foi secundarizado a partir de um padrão de trabalho de Sulfato de Indinavir (Fabricante Hetero Drugs[®], Lote: WS IS 01 / 02). Para a validação da metodologia analítica de cápsulas de Sulfato de Indinavir, foram utilizadas amostras de cápsulas de Sulfato de Indinavir (Fabricante: LAFEPE[®], Lote: 03090549).

As colunas utilizadas neste estudo foram: Coluna C18 (Lichrocart[®]) 125 x 4mm, 5µm e Coluna C8 (Symmetry Waters[®]), 250 x 4,6 mm, 5µm. Foram utilizados os seguintes reagentes: acetonitrila grau HPLC (Tedia[®]); citrato de sódio (Merck[®]); ácido cítrico (Merck[®]); hidróxido de sódio (Merck[®]); ácido fosfórico (Merck[®]); fosfato de potássio monobásico (Merck[®]); fosfato de potássio dibásico (Merck[®]); fosfato de sódio monobásico (Merck[®]); fosfato de sódio dibásico (Merck[®]) e água ultra-pura (Milli-Q Millipore[®] Corporation[®]).

Foi utilizado um lote certificado de vidrarias (Pyrex[®]) e equipamentos previamente qualificados: sistema de purificação de água (Milli-Q Millipore Corporation[®]); sistema de filtração à vácuo; aparelho de Ultrassom (Ultrasonic Cleaner Unique[®]); balança analítica (Mettler[®] H20T); agitador magnético (Quimis[®]); cromatógrafo líquido de alta eficiência (SHIMADZU[®]), com bombas LC – 10ADVP, autoinjeter SIL – 10ADVP, detector SPD – 10 AVP, controlador SCL – 10 AVP e forno CTO – 10ASVP; cromatógrafo líquido de alta eficiência (Thermo Separation Products[®]), com detector Spectra System UV100, integrador Datajet integrator, forno Eldex CH-150, bomba ConstaMetric 3200, degaseificador Membrane Degasser e autoinjeter manual; membrana e filtro 0,45 µm (Milex Millipore[®]) e espectrofotômetro UV 2401PC (SHIMADZU[®]).

2.1. Desenvolvimento do Método Analítico

Baseando-se em referências bibliográficas, foram testadas dezenove variações, avaliando-se os seguintes parâmetros: colunas (C8 e C18); fase móvel, modificando-se as proporções dos tampões K_2HPO_4 e KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 e NaH_2PO_4 , $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ e H_2O com acetonitrila (ACN); comprimentos de onda (λ) (210, 220, 247 e 260 nm); fluxo (0,2 e 1,0 mL/min); volume de injeção (6,0, 20,0 e 50,0 μ L); temperaturas do forno (25°C e 40°C) e concentrações (100 e 200 ppm)^{9, 10, 11, 12, 13, 14, 15}.

A partir dos cromatogramas obtidos, avaliou-se a adequação do sistema cromatográfico, através dos parâmetros: fator de capacidade, número de pratos teóricos e fator de cauda.

2.2. Validação da Metodologia Analítica para Matéria-prima

Foi utilizado um método isocrático, com coluna de fase reversa C8, tendo como fase móvel o sistema tampão citrato de sódio pH=5,0 : acetonitrila (40:60) em um fluxo de 1,0 mL/min, detector UV (λ 260nm), volume de injeção de 20 μ L, temperatura de 40°C e concentração de 100 ppm. As diluições foram realizadas em água ultra-pura. Foram realizadas determinações de amostras em sextuplicata. Baseado na Resolução RE n° 899, de 29 de maio de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), foram avaliados os parâmetros de performance analítica: robustez, linearidade, faixa de variação, precisão, exatidão e limites de detecção e de quantificação^{3, 4, 5, 6, 7, 8, 16, 17, 18}.

A robustez foi realizada através de pequenas variações na proporção da composição da fase móvel, fluxo e temperatura do forno. Para a variação da proporção da composição da fase móvel, foram realizadas análises com tampão citrato de sódio : acetonitrila (35 : 65); tampão citrato de sódio : acetonitrila (40 : 60); tampão citrato de sódio : acetonitrila (45 : 55). Com relação ao fluxo, foram analisados os fluxos de 0,99, 1,00 e 1,01 mL/min. Para a temperatura do forno, foram avaliadas as temperaturas de 35, 40 e 45°C.

A linearidade foi avaliada através da análise da regressão linear pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios de quatro curvas autênticas com o mínimo de seis pontos nas concentrações de 40, 60, 80, 100, 120 e 160 ppm de Sulfato de Indinavir. A Faixa de Variação foi testada entre 40-160% da concentração de análise.

A precisão foi avaliada em três níveis: a) Repetibilidade (precisão intra-ensaio) foi determinada pela determinação de seis amostras individuais do produto em um pequeno intervalo de tempo, nas mesmas condições de teste. b) Precisão intermediária (precisão intra-laboratorial) foi determinada em dois dias por dois analistas diferentes.; c) Reprodutibilidade (precisão inter-laboratorial) foi avaliada entre dois laboratórios , Coordenadoria de Controle de Qualidade (COQUA) e Coordenadoria de Pesquisa & Desenvolvimento (COP&D), ambas situadas no Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco - LAFEPE.

A Exatidão foi determinada a partir de análises de amostras em concentrações conhecidas de Sulfato de Indinavir equivalentes a 50, 100 e 150 % da concentração teórica analisada.

Os Limites de Detecção e de Quantificação foram calculados pela divisão do desvio padrão dos coeficientes lineares das quatro curvas de calibração dos ensaios de linearidade, pelas médias dos coeficientes angulares das respectivas curvas, multiplicando-se por 3,3 e 10, respectivamente.

2.3. Validação da Metodologia Analítica para Cápsulas de Sulfato de Indinavir

Foram utilizadas as mesmas condições cromatográficas e concentração de análise da Validação da Metodologia Analítica para Matéria-prima.

Os parâmetros analisados foram: robustez, precisão (repetibilidade, precisão intermediária e reprodutibilidade), especificidade e exatidão.

Foram realizadas determinações de amostras em sextuplicata.

A especificidade foi realizada através de análises de placebo de cápsulas de Sulfato de Indinavir.

3. Resultados e Discussão

3.1. Desenvolvimento da Metodologia Analítica

A coluna escolhida foi a C8 em virtude do cromatograma obtido com a coluna C18 ter apresentado um pico com assimetria caudal.

Os resultados para os parâmetros avaliados estão descritos nas tabelas 01, 02 03 (ANEXO).

A metodologia escolhida foi a que apresentou um pico resolvido, menor tempo de retenção e nas condições ideais para conservação da coluna, além de baixo custo operacional.

A temperatura do forno escolhida foi 40°C em virtude de, acima de 35°C, ocorrer uma melhor estabilidade desta temperatura.

O comprimento de onda selecionado foi 260 nm, por ter apresentado o maior valor de absorvância quando realizada a varredura espectrofotométrica, e por apresentar uma boa área.

A composição de fase móvel escolhida foi citrato de sódio:acetonitrila 40:60, podendo tomar como referência os limites das substâncias relacionadas encontradas em “consulta pública” na Farmacopéia Brasileira – 6º fascículo.

A concentração analítica, o volume de injeção e o fluxo selecionados foram 100 ppm, 20 µL e 1,0 mL/min., respectivamente. As diluições foram feitas em água ultra-pura.

Os valores calculados para o número de pratos teóricos, fator de cauda e fator de capacidade foram 9869,09; 1,31 e 4,60, respectivamente.

3.2. Validação da Metodologia Analítica para Matéria-prima

Na Robustez, para todas as modificações analisadas, os resultados foram tratados estatisticamente por análise de variância (ANOVA) one-way ou teste t de Student. Não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas, com 95% de confiança, entre as condições avaliadas, indicando que o método é robusto¹⁹.

Na Linearidade, a equação de regressão linear obtida pelo método proposto foi $y=5004,2x + 5071$, onde y representa a área do pico no cromatograma e x representa a concentração de Sulfato de Indinavir.

A análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados demonstrou um coeficiente de correlação muito próximo da unidade (0,9995), demonstrando que há correlação linear entre as variáveis X e Y, o que significa que 99,95% da variação total em torno da média é explicada pela regressão, restando 0,05% para ser explicado pelos resíduos. Construindo a tabela da ANOVA, verificou-se através de testes F, com 95% de confiança, que a regressão é estatisticamente significativa e que não há evidências de falta de ajuste. Portanto, o método é linear em concentrações compreendidas entre 40 e 160 ppm¹⁹.

Nos três níveis analisados para a precisão, o método proposto mostrou adequada precisão.

Na repetibilidade, o coeficiente de variação (CV) apresentou um valor de 0,38%.

Para a precisão intermediária, não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas entre analistas e dias, empregando-se o teste t de Student, com 95% de confiança.

Na reprodutibilidade, não foi evidenciada diferença estatisticamente significativa, com 95% de confiança, entre os dois laboratórios, empregando-se o teste t de Student.

Na Exatidão, empregando-se o teste t de Student, com 95% de confiança, não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores obtidos e os esperados.

3.3. Validação da Metodologia Analítica para Cápsulas de Sulfato de Indinavir

Foram feitas determinações com as mesmas variações na robustez e os mesmos tratamentos estatísticos realizados na Validação da Metodologia para Matéria-prima para a precisão, reprodutibilidade e exatidão.

Na análise do placebo, não foi detectada a presença do pico do Sulfato de Indinavir o qual apresenta um tempo de retenção em 4,0 (quatro) minutos, comprovando a especificidade do método (Figuras 01 e 02).

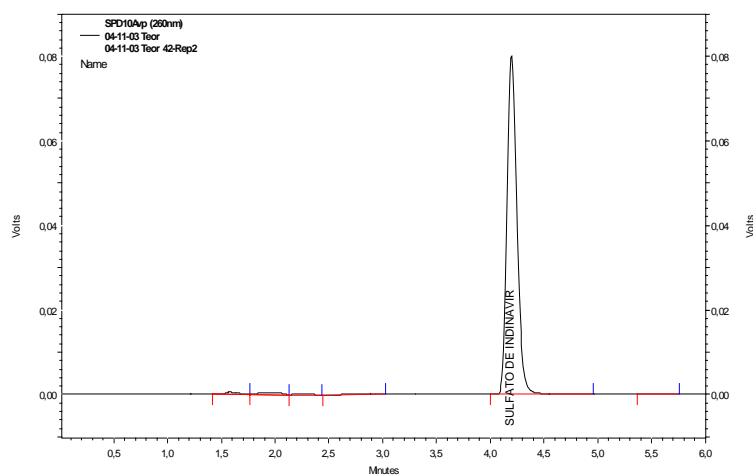


Figura 01: Cromatograma obtido da análise de Sulfato de Indinavir

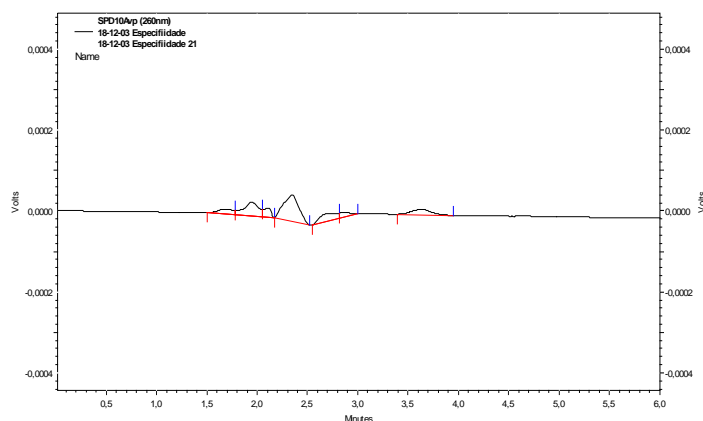


Figura 02: Cromatograma obtido da análise do placebo de Sulfato de Indinavir

4. Conclusão

O método apresentado é considerado como um método alternativo, por não constar nas atuais edições das Farmacopéias Brasileira e Americana, e como tal, foi validado segundo a Legislação em vigor, Resolução – RE 899, de 29 de maio de 2003.

Os resultados obtidos mostram que o método atende aos requisitos de Boas Práticas de Fabricação e Controle, pois apresenta a robustez, a precisão, a reprodutibilidade e finalmente a confiabilidade requerida para um método analítico.

5. Referências Bibliográficas

1. USP 25. **The United States Pharmacopeia**. Rockville: 2001.
2. FDA. Guideline for Submitting Samples and analytical Data for Methods Validation. US Government Printing Office. February, 1997. 1990-281-794:20818.
3. BRASIL, Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003 (DOU 02/06/03) – **Guia para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
4. GREEN, J. M. **A practical guide to analytical method validation**. Analytical Chemistry News & Features, 1996. p.305-309,.

5. ICH. **International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration on Pharmaceuticals for Human Use Q2A**. Text on Validation of Analytical Procedures. Genebra, march, 1995.
6. JEFFERY, G.H., BASSETT, J., MENDHAM, J., DENNEY, R.C. *Análise Química Quantitativa* - VOGEL, Ed. Livros Técnicos e Científicos, 5ª edição, Rio de Janeiro, 1992, p. 213-214.
7. LEITE, F. **Validação em Análise Química**. São Paulo: 3ª Edição, Ed. Átomo, p. 24-224.
8. SWARTZ, M. R & KRULL, I. S. **Validação de Métodos Cromatográficos**. Pharmaceutical Technology. Ed. Brasileira. vol. 2, 1998, nº. 1, p. 12-20.
9. WOOLF, E. J.; MATUSZEWSKI, B. K. **Simultaneous Determination of Unlabeled and Deuterium-Labeled Indinavir in Human Plasma by High-Performance Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometric Detection**. Journal of Pharmaceutical Sciences. vol. 86 , 1997, nº2, February, p. 193 – 198.
10. VILLANI. P. e al. **Antiretrovirals: Simultaneous Determination of Five Protease Inhibitors and Tree Nonnucleoside Transcriptase Inhibitors in Human Plasma by a rapid High-Performance liquid Chromatography – Mass Spectrometry Assay**. Therapeutic drug Monitoring 23: 380-388, Philadelphia, 2001.
11. BURGER, D. M. et al. **Determination of Indinavir, na HIV-protease inhibitor, in human plasma by reversed-phase high-performance liquid chromatography**. Journal of Chromatography. B. 703, 1997, p. 235-241.
12. REMMEL, R. P. **Simultaneous HPLC Assay for Quantification of Indinavir, Nelfinavir, Ritonavir and Saquinavir in Human Plasma**. Clinical Chemistry 46:1. 73-81, 2000.
13. BORUCHOFF, S. E. **The steady-state disposition of Indinavir is not altered by the concomitant administration of clarithromycin**. Clinical Pharmacology & Therapeutics. vol. 67, nº 4, p. 351-359.
14. CARVER, P. L. **Meal Composition Effects on the Oral Bioavailability of Indinavir in HIV-Infected Patients**. Pharmaceutical Research, vol. 16, 1999, nº 5, p. 718-724.
15. SVENSSON, J. et al. **Rapid and Simple Determination of Indinavir in Serum, urine, and Cerebrospinal Fluid Using High-Performance Liquid Chromatography**. Therapeutic Drug Monitoring 22:626-629, Philadelphia, 2000.
16. BRITTAIN, H. G. **Validação de Métodos Analíticos Não Cromatográficos**, Pharmaceutical Technology, Ed. Brasileira, vol. 2, 1998, Junho, p.4-9.

17. FERNANDES, T, R, P. **Dissertação de Mestrado**. Desenvolvimento Farmacotécnico e Validação de Metodologia Analítica para Comprimidos Revestidos à Base de Diclofenaco de Potássio. Recife, 2003.
18. GRANJEIRO JÚNIOR, S. **Dissertação de Mestrado**. Desenvolvimento Farmacotécnico, Validação da Metodologia, Estudo de Estabilidade e Equivalência Farmacêutica da Nevirapina. Recife, 2001.
19. BARROS NETO, B. **Como Fazer Experimentos. Pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. Editora da UNICAMP, 2001, p. 212-217, 227-235.

ARTIGO V

**Desenvolvimento Farmacotécnico-
Industrial para Forma Farmacêutica
Cápsula de Sulfato de Indinavir 400 mg**

DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO-INDUSTRIAL PARA FORMA FARMACÊUTICA CÁPSULA DE SULFATO DE INDINAVIR 400 mg

Rosali Maria Ferreira da Silva^{1,4}; Fábio Henrique Cavalcanti de Oliveira¹; Clarice Madalena Bueno Rolim⁵, Maria Fernanda Pimentel³, Flávia Patrícia Morais de Medeiros^{1,4}, Miracy Muniz de Albuquerque²; Pedro José Rolim Neto^{1,4}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE - Av. Prof. Arthur de Sá, S/N, Cidade Universitária - CEP. 50740-020 - Recife - PE

²Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos - Departamento de Ciências Farmacêuticas – UFPE - Av. Arthur de Sá, S/N Cidade Universitária - Recife – PE.

³Departamento de Engenharia Química – UFPE - Av. Arthur de Sá, S/N Cidade Universitária - Recife – PE

⁴Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – LAFEPE - Largo de Dois Irmãos, 1117, Dois Irmãos - CEP 52171-010 - Recife – PE

⁵Departamento de Farmácia Industrial –Universidade Federal de Santa Maria – Prédio 26, sala 1105 - CEP 97105-900 – Santa Maria – RS.

E-mail: prolim@ufpe.br; rosalimfs@aol.com

Palavras-Chave: Sulfato de Indinavir; Transposição de Escala; Estudo de Estabilidade.

1. Introdução

O Sulfato de Indinavir é um inibidor da protease no ciclo do vírus da imunodeficiência humana (HIV). Cápsulas de Indinavir são formuladas como um 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)^{1, 4}.

O Sulfato de Indinavir tem como produto de referência no mercado o CRIXIVAN[®], fabricado pela indústria farmacêutica Merck Sharp & Dohme[®] e disponibilizado para atender ao Programa de SIDA do Ministério da Saúde a um custo relativamente alto. Sendo assim, fez-se necessário o desenvolvimento farmacotécnico-industrial do Sulfato de Indinavir cápsulas, buscando uma forma farmacêutica estável, produzida a baixo custo e com qualidade atendendo às Boas Práticas de Fabricação e,

conseqüentemente, permitindo um maior número de portadores do HIV acesso ao medicamento. Este estudo foi realizado em parceria com o Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos do Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco e o Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE).

O objetivo deste trabalho foi o desenvolvimento da formulação, desenvolvimento da metodologia para dissolução, estudo reológico, transposição de escala, estudo de estabilidade e estudo comparativo para cápsulas de Sulfato de Indinavir 500 mg (equivalente a 400 mg de Indinavir).

2. Materiais e Métodos

Para o desenvolvimento farmacotécnico, foi realizada uma planificação qualitativa de diluentes^{2, 6, 7, 8, 9, 11, 15, 16}, utilizando como matérias-primas: Sulfato de Indinavir compactado (Fabricante Hetero Drugs[®]); lactose anidra (New Zealand[®]); lactose monohidratada spray-dried (Borculodomo Ingredientes[®]); amido (CornProducts[®]); manitol (Getec Guanabara Química Ind. S/A[®]); celulose microcristalina 101 (Blanver Farmoquímica Ltda[®]), celulose microcristalina 102 (Blanver Farmoquímica Ltda[®]), Cellactose (Meggle[®]), Starlac[®] (Meggle[®]) e utilizado como lubrificante o estearato de magnésio (Ind. Química Anastácio S/A[®]). Os equipamentos de produção utilizados foram: Balança semi-analítica Marte[®], Misturador em “V” (LAWES[®]) e Encapsuladeira manual (Multilabor[®]).

Foram manipulados oito Lotes de Bancada (LB) de 180 cápsulas e massa de 113,4 g, com peso médio de conteúdo de 630 mg, descritos na tabela 01.

Tabela 01: Pré-Formulação para Cápsula de Sulfato de Indinavir

Componentes	LB I (%)	LB II (%)	LB III (%)	LB IV (%)	LB V (%)	LB VI (%)	LB VII (%)	LB VIII (%)
Sulfato de Indinavir	79,37	79,37	79,37	79,37	79,37	79,37	79,37	79,37
Lactose anidra (New Zealand)	19,04	-	-	-	-	-	-	-
Lactose monohidratada spray-dried	-	19,04	-	-	-	-	-	-
Amido	-	-	19,04	-	-	-	-	-
Manitol	-	-	-	19,04	-	-	-	-
Celulose microcristalina 101	-	-	-	-	19,04	-	-	-
Celulose microcristalina 102	-	-	-	-	-	19,04	-	-
Cellactose [®]	-	-	-	-	-	-	19,04	-
Starlac [®]	-	-	-	-	-	-	-	19,04
Estearato de Magnésio	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59	1,59

O processo foi realizado com duas etapas de mistura, utilizando um misturador em “V”. Na primeira etapa, foram homogeneizados o Sulfato de Indinavir e o diluente, durante vinte minutos. Em seguida, foi adicionado e homogeneizado por cinco minutos o estearato de magnésio. O produto foi encapsulado em invólucro “00” branco opaco (Capsugel[®]) e acondicionado em recipiente de polietileno hermeticamente fechado.

O controle de qualidade físico-químico^{3, 14} dos Lotes de Bancada foram realizados utilizando os seguintes equipamentos: balança analítica (Mettler[®]); desintegrador (Nova Ética[®]), Karl Fischer (Mettler[®] DL 18), cromatógrafo a líquido (SHIMADZU[®]), aparelho de dissolução (ERWEKA[®]) e espectrofotômetro UV-VIS (SHIMADZU[®]).

As metodologias analíticas para peso médio, desintegração, umidade e uniformidade de peso, seguiram The United States Pharmacopeia 25¹⁰, enquanto que a metodologia utilizada para determinação de teor foi desenvolvida e validada atendendo a Resolução RE n° 899, de 29 de maio de 2003¹⁸, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Foi utilizado um método isocrático, com coluna de fase reversa C-8, tendo como fase móvel o sistema tampão citrato de sódio pH=5,0 : acetonitrila (40:60), num fluxo de 1,0 mL/min, detector UV em um λ 260 nm, volume de injeção de 20 μ L, temperatura de 40°C e concentração de 100 ppm. As diluições foram realizadas em água ultra-pura.

Para a análise do teor dissolvido (Teste de Dissolução)^{9, 12}, foi desenvolvida uma metodologia baseada em variações do meio de dissolução (citrato de sódio pH=3,8), água destilada e ácido clorídrico (HCl) 0,1 e 0,01N; aparato (pá e cesta) e rotação (50 e 100 rpm). O volume do meio de dissolução, a concentração analítica e o tempo utilizados foram 900 mL, 55,56 ppm e 45 min, respectivamente. As amostras foram avaliadas em um espectrofotômetro em λ 260 nm. Foi realizado um tratamento estatístico por Análise de Variância (ANOVA) e teste t de Student.

No estudo reológico das misturas de pós de cada lote de bancada, foram determinados os Volumes Aparente e de Compactação e as Densidades Aparente e de Compactação^{20,21, 22, 23}.

A determinação dos Volumes Aparente e de Compactação foi realizada colocando-se 10 g da mistura de pós em uma proveta (Vidrolabor[®]) de 50 mL, fixada em um compactador automático. O equipamento promoveu uma compactação da mistura de pós através de movimentos verticais na proveta, numa altura de 3 cm. O volume ocupado pela mistura foi medido antes de se ligar o compactador (V_0); após 10 compactações, necessárias para a acomodação da mistura (V_{10}), e em 1250 compactações (V_{1250}), onde o volume se manteve constante.

As Densidades Aparente e de Compactação foram determinadas a partir da relação entre a massa de 10 g da mistura de pós e o volume ocupado pela mistura antes e após a compactação.

Com a formulação selecionada para a transposição de escala, foi realizado um estudo de granulometria utilizando um jogo de tamizes de 28, 35, 60, 80, 100 e 200 mesh (Bertel Indústria Metalúrgica Ltda[®]).

Na transposição de escala, foram manipulados três lotes industriais, cada um contendo 70 Kg, massa suficiente para obter uma quantidade superior a 110.000 unidades. Nesta etapa, foram utilizados: Balança (Filizola[®]); Misturador em “V” (LAWES[®]); Encapsuladeira Automática (Zanazi[®] 40F); Desumidificador (Arsec[®]) e uma Linha de Envase e Embalagem.

Está sendo realizado o estudo de estabilidade, seguindo a resolução RE n° 560, de 02 de Abril de 2002 da ANVISA, preconizando a utilização de parâmetros para a

realização da estabilidade acelerada e de longa duração. Neste estudo, foi utilizada uma Câmara Climática (FANEM® Mod. 345)^{13, 17}.

Foi realizado um estudo comparativo entre as cápsulas desenvolvidas (LAFEPE Sulfato de Indinavir®, Lote: 03090549) e o medicamento de referência (CRIXIVAN® Lote: J8696).

3. Resultados e Discussão

Todos os resultados dos controles físico-químicos dos lotes de bancada, descritos na tabela 02, atenderam as especificações.

Tabela 02: Resultados dos Controles de Qualidade Físico-Químicos

Testes	Especificações	LB I	LB II	LB III	LB IV	LB V	LB VI	LB VII	LB VIII
Peso médio da cápsula	0,7500 g ± 5%	0,7313	0,7355	0,7384	0,7277	0,7171	0,7123	0,7377	0,7458
Peso médio do conteúdo	0,630 g ± 5%	0,6769	0,6154	0,6205	0,6112	0,5997	0,5947	0,6202	0,6278
Desintegração	Não mais que 30 min	5 min	6 min	8 min	4 min	5 min	4 min	4 min	3 min
Umidade por Karl Fischer (%)	Não mais que 5,0%	2,24	2,87	3,95	2,07	3,49	3,63	3,09	2,94
Teor (%)	90,0 a 110,0%	97,02	94,38	95,86	95,70	96,24	96,71	95,34	93,86
Dissolução (%)	Não menos que 80% em 45 min	100,08	98,67	96,06	96,36	94,37	92,94	95,85	97,03
Uniformidade de Peso (%)	85 a 115%	98,82	94,01	95,80	96,43	96,62	97,43	96,55	94,43

No desenvolvimento da metodologia para dissolução, não foram evidenciadas diferenças estatisticamente significativas, com 95% de confiança, entre os meios de dissolução (água destilada, HCl 0,1 e HCl 0,01N); aparatos (cesta e pá) e rotação (50 e 100 rpm).

Foi evidenciada diferença estatisticamente significativa, com 95% de confiança, entre os meios de dissolução água destilada e tampão citrato de sódio pH=3,8. Foi evidenciada uma maior média de teor dissolvido do Sulfato de Indinavir na água destilada.

Os parâmetros selecionados para o teste de dissolução foram: 900 mL de água destilada, 50 rpm, aparato cesta e um tempo de 45 min. As amostras com concentração analítica final de 55,56 ppm foram avaliadas em espectrofotômetro em um λ 260 nm.

Os resultados dos volumes aparente e de compactação e das densidades aparente e de compactação estão descritos na tabela 03, demonstrando que os maiores valores de densidade compactada são para os Lotes de Bancada I e II. Quanto maior o valor da densidade compactada, melhor será o escoamento da mistura de pós na escala industrial.

Como o Sulfato de Indinavir é bastante higroscópico, foi selecionada para a transposição de escala a formulação do Lote de Bancada I.

Tabela 03: Resultados dos Volumes Aparente e de Compactação e das Densidades Aparente e de Compactação

Testes	LB I	LB II	LB III	LB IV	LB V	LB VI	LB VII	LB VIII
Volume aparente (mL)	18,00	18,00	20,00	20,00	22,00	21,00	21,00	19,00
Volume compactado (mL)	15,00	15,00	17,00	16,00	16,00	18,00	17,00	16,00
Densidade aparente (g/mL)	0,56	0,56	0,50	0,50	0,45	0,48	0,48	0,53
Densidade compactada (g/mL)	0,67	0,67	0,59	0,63	0,63	0,56	0,59	0,63

A figura 01 ilustra o resultado do estudo de granulometria para o Lote de Bancada I, demonstrando que o comportamento deste lote é semelhante ao do princípio ativo no estudo de granulometria, sendo justificado pelo alto percentual de Sulfato de Indinavir na formulação.

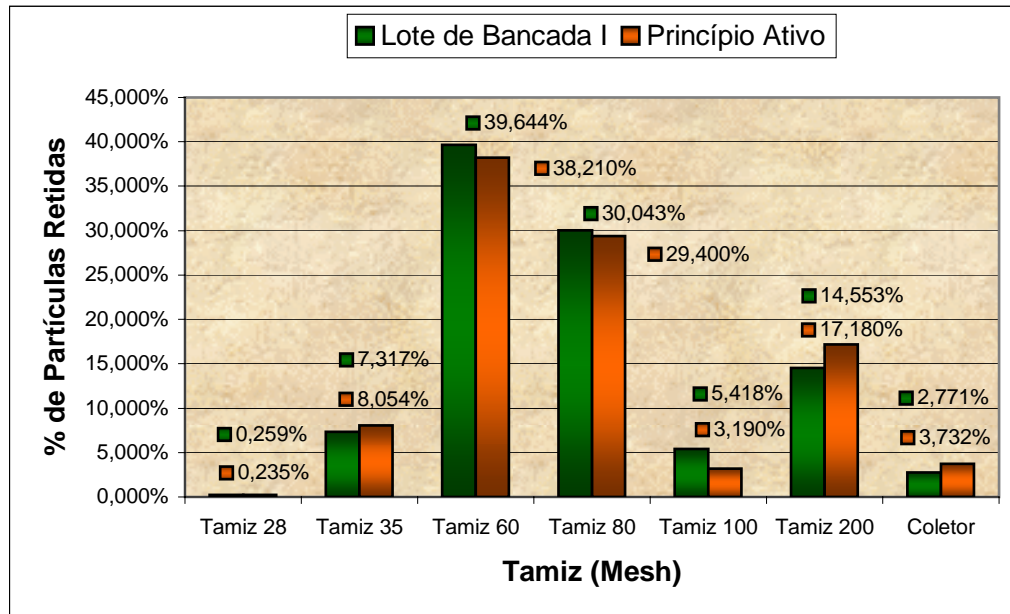


Figura 01: Resultados da Comparação entre o Estudo de Granulometria da Formulação do Lote de Bancada I com o princípio ativo Sulfato de Indinavir (Hetero Drugs®)

Na transposição de escala, as misturas de pós dos três lotes industriais apresentaram um bom escoamento na encapsuladeira. Foram determinadas as condições ambientais temperatura de 25°C e umidade relativa de 35%, sendo necessário a presença de um desumidificador junto à encapsuladeira. Devido à aderência do Sulfato de Indinavir na encapsuladeira, houve a necessidade de se limpar os pinos da máquina com intervalos de 30 minutos.

Está sendo realizado o estudo de estabilidade acelerada para os três lotes industriais, durante seis meses (180 dias), à temperatura de $40 \pm 0,5^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $75 \pm 5\%$. Os resultados obtidos até o tempo de 90 dias estão descritos nas tabelas 04, 05 e 06 (ANEXO). O estudo de estabilidade de longa duração se encontra em andamento.

Os resultados para o estudo comparativo estão demonstrados na tabela 07.

Tabela 07: Estudo Comparativo para Cápsulas de Sulfato de Indinavir

Testes	Especificações	LAFEPE Sulfato de Indinavir®	Crixivan®
Descrição	Cápsula de gelatina levemente opaca, contendo um pó branco	Cápsula de gelatina levemente opaca, contendo um pó branco	Cápsula de gelatina levemente opaca, contendo um pó branco
Peso médio da cápsula	0,75000 g ± 7,5%	0,75822 g	0,76905 g
Peso médio do conteúdo	0,63000 g ± 7,5%	0,64002 g	0,65896 g
Desintegração	Não mais que 30 min. (água a 37°C)	4 min	12 min
Doseamento	90,0 a 110,0%	101,61%	101,86%
Umidade por Karl Fischer	Não mais que 5,0%	2,16%	2,03%
Dissolução	Não menos que 80% em 45 min.	101,20%	89,4%
Uniformidade de peso	85 a 115%	100,63%	102,34%

4. Conclusão

Os estudos de pré-formulação nos conduziu à definição da forma farmacêutica cápsula.

Os resultados demonstraram que a formulação selecionada correspondeu às especificações de controle físico-químico, além de mostrar-se economicamente viável.

A formulação se apresentou estável diante das condições estabelecidas no testes de estabilidade acelerada.

As cápsulas desenvolvidas de Sulfato de Indinavir, quando comparadas com o medicamento de referência, são equivalentes entre si, porém o estudo não é considerado uma Equivalência Farmacêutica, segundo a Resolução RE nº900, de 29 de maio de 2003, da ANVISA ^{4, 19}.

5. Referências Bibliográficas

1. MEARLY, N. **Indinavir Sulfate**. Anti-HIV. HIV-1 Protease Inhibitor. Drugs of the Future, 1996, p. 600-609.
2. ANSEL, H.C., POPOVICH, N.G., ALLEN, Jr. L.V. **Farmacotécnica – Formas Farmacéuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos**. 6ª ed. Baltimore: Editorial PREMIER, 2000, p. 90-91; 201-236.
3. FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4ªed. São Paulo: Atheneu editora , 1988, parte I, pág. V.1.5 a V.1.5.-4.
4. BRASIL, Resolução RDC nº 10, de 02 de Janeiro de 2001 (DOU 15/01/01) - **Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
5. GOODMAN, L. S. & GILMAN, A. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 9ª. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 1996. 1436 p.
6. PRISTA, L.N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. **Tecnologia Farmacêutica**. 4ªed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1997. v1 p. 291-297.
7. LACHMAN. H.A; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Lisboa: Calouste Gulbekian, v2. 2001.
8. LE HIR, A. **Noções de Farmacia Galênica**, 6ªed. São Paulo: Organização Andrei, 1997, p.273-323.
9. GENNARO, A. R. **Remington. Farmácia**. 17ªed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 1987, volumes 1 e 2 p. 892-811, 2001-2012.
10. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 25ed. Rockville: The United Pharmacopeia Convencional, 2001.
11. KIBBE, A. H. **Handbook of Pharmaceutical Excipients** Third Edition. Edited by 2000. American Pharmaceutical Association and Pharmaceutical Press. United States of America.p.276-285; 305-308.
12. MARGARETH, M. **Desenvolvimento e Validação de Métodos de Dissolução para Formas Farmacêuticas Sólidas Orais**. Revista Analítica. Agosto. Nº01. São Paulo: Editora Ocre Comunicação, 2002. p. 48-51.

13. CONNORS, K. A. et al. **Chemical Stability of Pharmaceuticals**. A Handbook for Pharmacists. Second Edition. 1986. Canadá.: Editora John Wiley & Sons. p. 03-05.
14. GUEDES, L. C.. **Controle de Qualidade na Indústria Farmacêutica**. Rio de Janeiro: Editora Confederação Nacional da Indústria, 1987. Departamento de Assistência à Média e Pequena Indústria. p. 33 – 68.
15. PRESCOTT, J. K; BARNUM, R.. A. **Sobre a Fluidez de Pós**. Pharmaceutical Technology, dezembro, 2000, p. 16-30.
16. CARAZZATTO, P. R. A. N. R. **A Farmacotécnica das Cápsulas**. Revista Racine Setembro/outubro. 1999. p.. 19-22.
17. BRASIL, Resolução RE nº 560, de 02 de Abril de 2002 (DOU 03/04/02) – **Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
18. BRASIL, Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003 (DOU 02/06/03) – **Guia para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
19. BRASIL, Resolução RE nº 900, de 29 de maio de 2003 (DOU 02/06/03) – **Guia para a Realização do Estudo e Elaboração do Relatório de Equivalência Farmacêutica** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.
20. MEDEIROS, F.P.M. **Dissertação de Mestrado**. Desenvolvimento de Formulações à Base de *B. sphaericus* para Obtenção de um Biolarvicida. Recife, 2001.
21. DIAS, A. **Dissertação de Mestrado**. Desenvolvimento de Formas Farmacêuticas: Comprimidos, Óvulos e Creme Vaginal Tamponados de Liberação Prolongada contendo Metronidazol para Tratamento de Vaginite provocada por *Gardnerella vaginalis*. Recife, 2001.
22. ALVES, F. C. **Dissertação de Mestrado**. Desenvolvimento de Formas Farmacêuticas a partir da Beta-Lapachona para Utilização em Terapias Antineoplásicas. Recife, 2002.

23. NUNES, L. C. C. **Dissertação de Mestrado.** Cálcio a partir de Conchas de Ostras: Tecnologia de Obtenção de Comprimidos e Biodisponibilidade Comparativa. Recife, 2001.

CONCLUSÕES

Conclusões

A exaustiva revisão da literatura nos levou à necessidade de desenvolver um inibidor da protease na forma farmacêutica cápsula.

A caracterização do Sulfato de Indinavir, foi demonstrado que a amostra do fornecedor Hetero Drugs[®] atendeu às especificações, sendo escolhida para dar continuidade ao estudo para a obtenção tecnológica de cápsulas de Sulfato de Indinavir.

A validação da metodologia analítica para doseamento da matéria-prima e cápsulas de Sulfato de Indinavir garantiu que o método foi robusto, preciso e exato dentro da variação especificada na qual o Sulfato de Indinavir foi analisado.

As cápsulas desenvolvidas de Sulfato de Indinavir 500 mg (equivalente a 400 mg de Indinavir) foram obtidas com sucesso, apresentando uma formulação economicamente viável, estável e, quando comparadas com o medicamento de referência, apresentaram-se equivalentes entre si, porém o estudo não foi considerado uma Equivalência Farmacêutica, segundo a Resolução RE nº 900, de 29 de maio de 2003, da ANVISA.

PERSPECTIVAS

Perspectivas

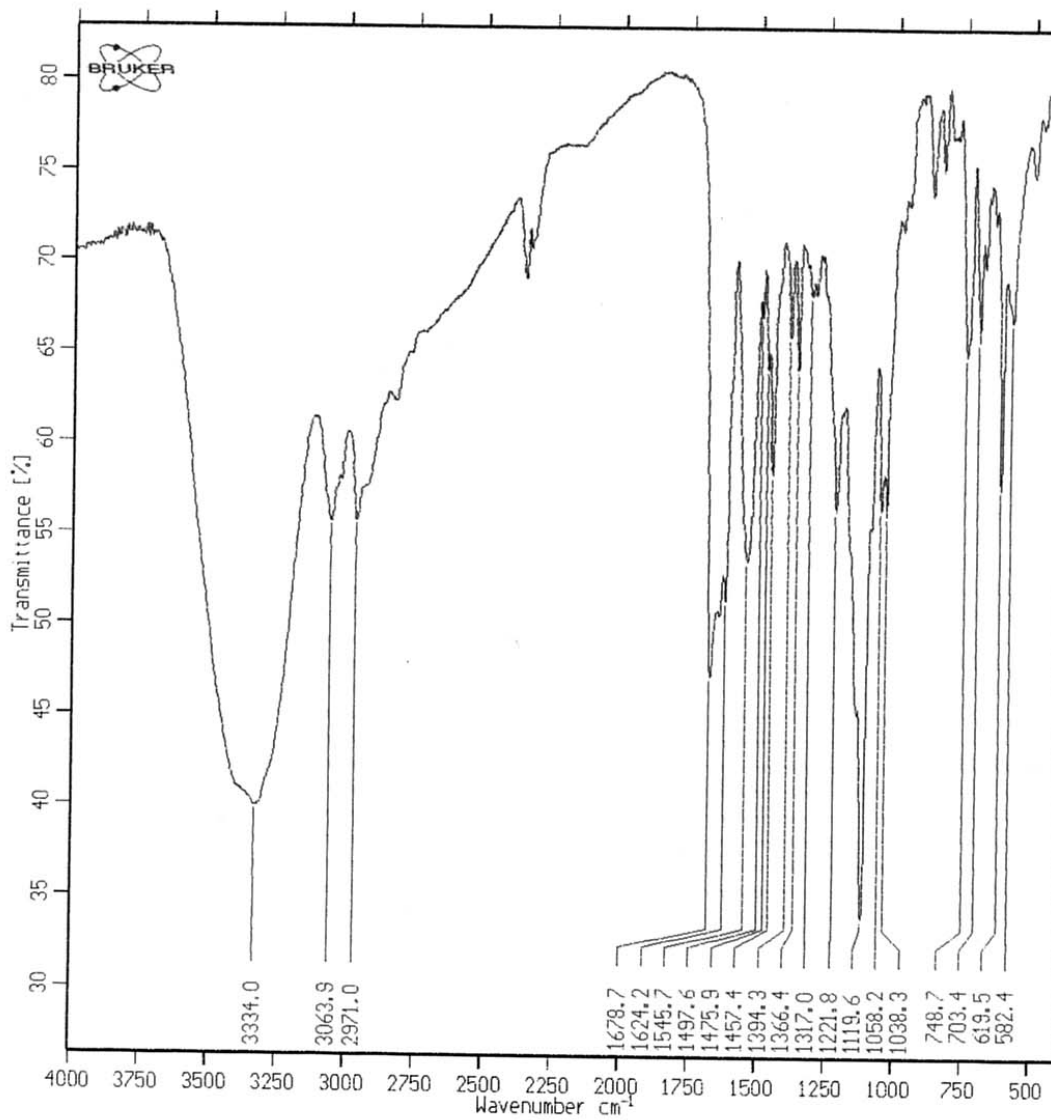
- ✓ Concluir o estudo de Certificação dos Fornecedores do Sulfato de Indinavir.
- ✓ Encaminhar Estudos de Equivalência Farmacêutica e Bioequivalência para as cápsulas desenvolvidas de Sulfato de Indinavir.
- ✓ Validar a metodologia analítica desenvolvida para Teste de Dissolução das cápsulas de Sulfato de Indinavir.
- ✓ Validar a metodologia para doseamento da matéria-prima e cápsulas de Sulfato de Indinavir por Espectrofotometria UV-VIS, para agilizar e baixar custos das análises industriais.

**REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS**

Referências Bibliográficas

1. LIMA, A. L. M. et al. **Perguntas e respostas HIV/AIDS**. 1º ed. São Paulo: Atheneu, 1996.
2. AIDS. Etiologia, clínica, diagnóstico e tratamento. Disponível em: <<http://br.geocities.com/crvasco2001/webdoc1.htm>>. Acesso em: 10 abr. 2002.
3. MEARLY, N. **Indinavir Sulfate**. Anti-HIV. HIV-1 Protease Inhibitor. Drugs of the Future, 1996, p. 600-609.
4. ANSEL, H.C et al. **Farmacotécnica – Formas Farmacêuticas & Sistemas de Liberação de Fármacos**. 6ª ed. Baltimore: Editorial PREMIER, 2000.
5. BRASIL, Resolução RE nº 560, de 02 de Abril de 2002 (DOU 03/04/02) – **Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

ANEXOS



SPECTRUM : A0918.3

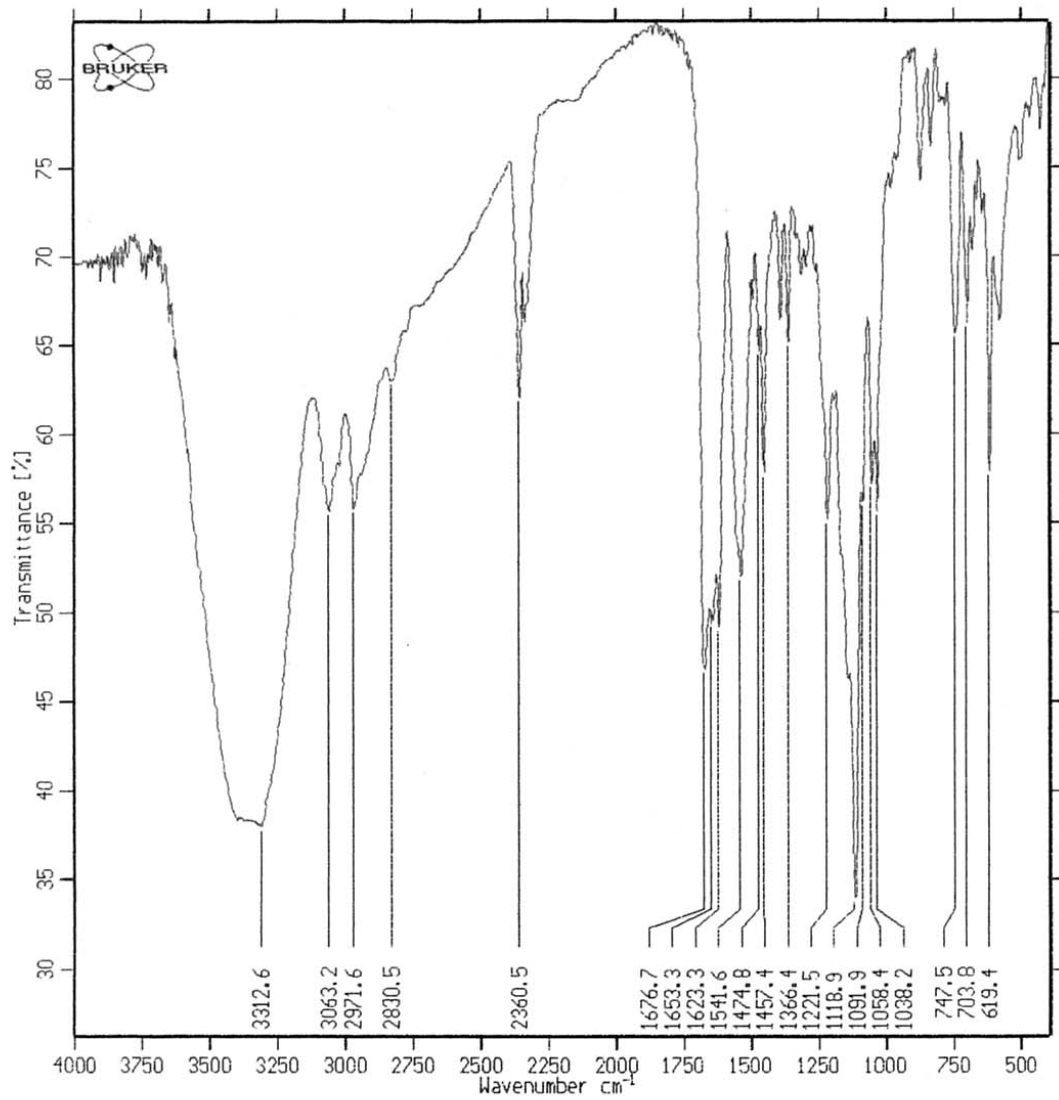
DATE : 20/ 9/2002

TIME : 10: 4:12

SAMPLE : Padrao da Hetero Drugs / Rosali (Pedro Rolin

TECHNIQUE : Pastilha de KBr

USER : Eliete



SPECTRUM : A0918.5

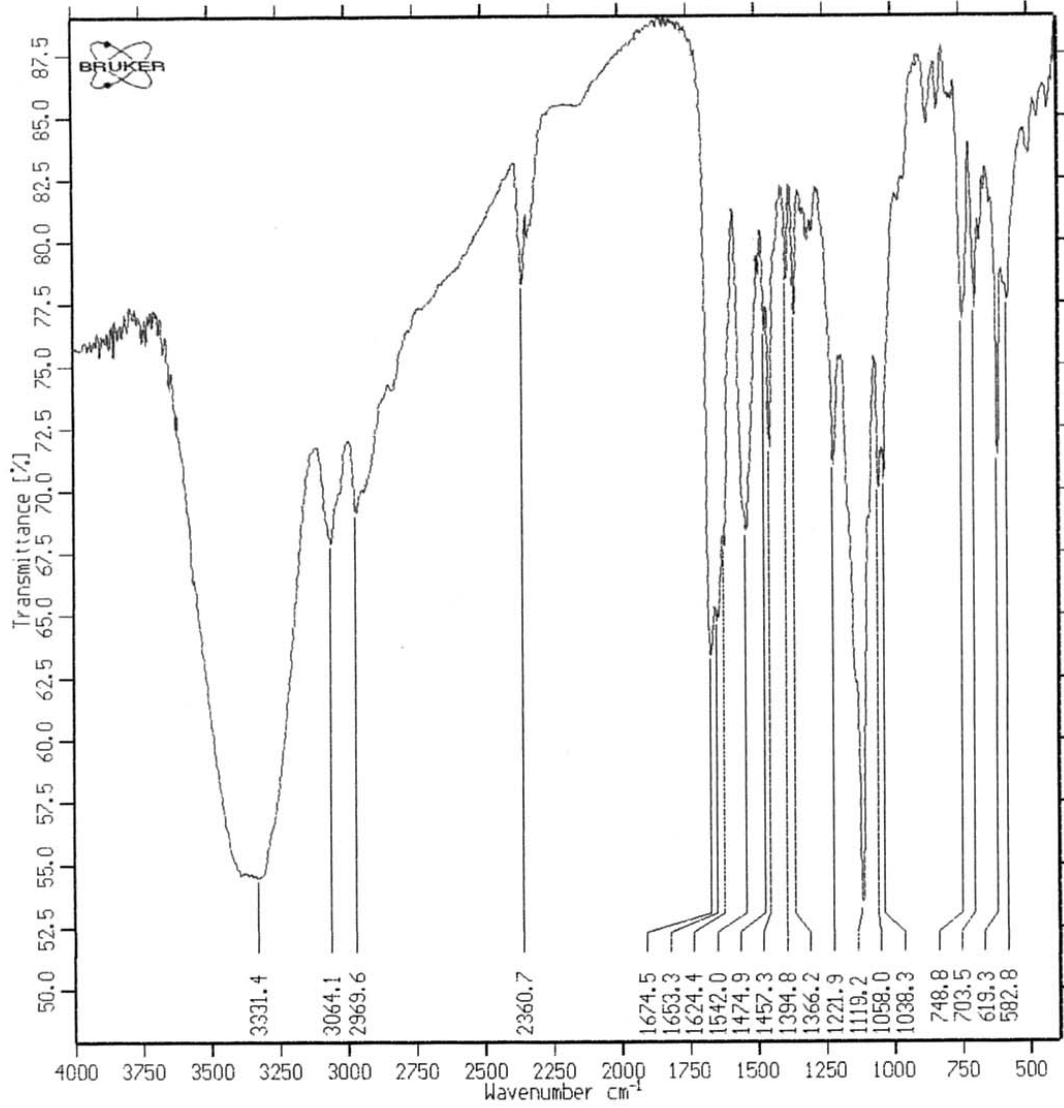
DATE : 20/ 9/2002

TIME : 10:25:45

SAMPLE : Amostra da Hetero Drugs / Rosali (Pedro Rolim)

TECHNIQUE : Pastilha de KBr

USER : Eliete



SPECTRUM : A0918.4

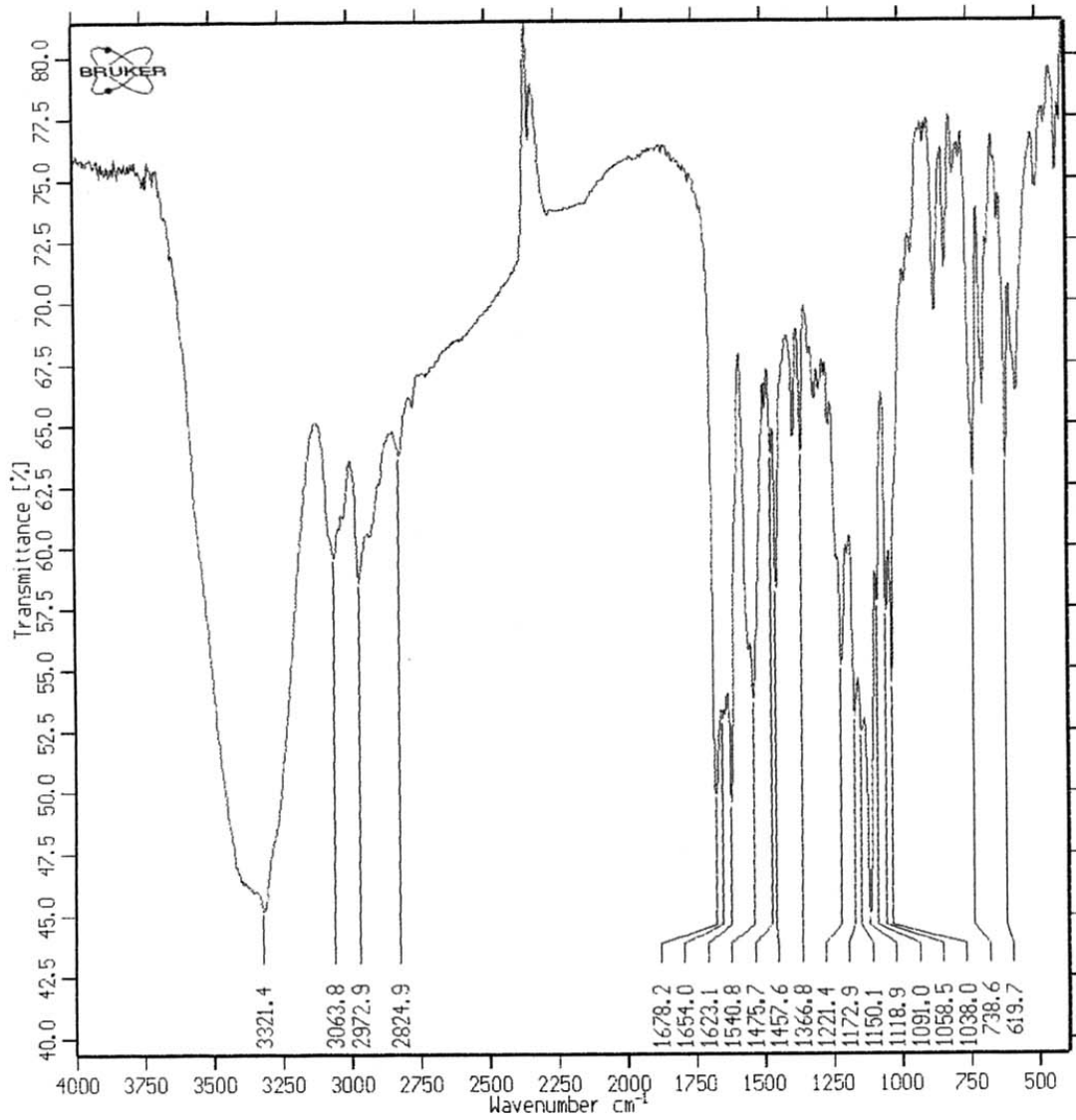
DATE : 20/ 9/2002

TIME : 10:13:38

SAMPLE : Padrao da Xiamen Mchem / Rosali (Pedro Rolim)

TECHNIQUE : Pastilha de KBr

USER : Eliete



SPECTRUM : A0918.6
 DATE : 20/ 9/2002
 TIME : 10:48:33

SAMPLE : Amostra da Xiamen Mchen / Rosali (Pedro Rolí
 TECHNIQUE : Pastilha de KBr
 USER : Eliete

ANEXO. Artigo III – **Thermal Characterization of Two Solvatos Forms of Indinavir Sulfate Using TG, DSC and DSC - Photovisual**

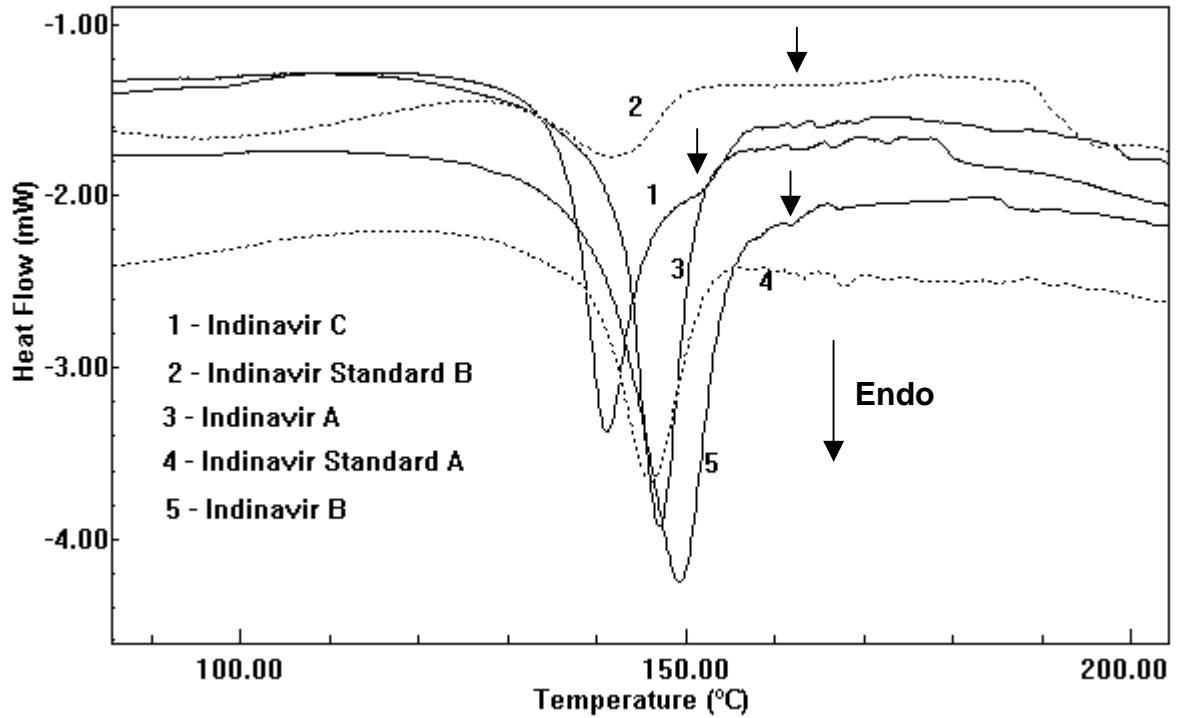


Figure 1 - DSC curves of indinavir sulfate raw materials and standards at 10°C/min.

ANEXO. Artigo III – **Thermal Characterization of Two Solvatos Forms of Indinavir Sulfate Using TG, DSC and DSC - Photovisual**

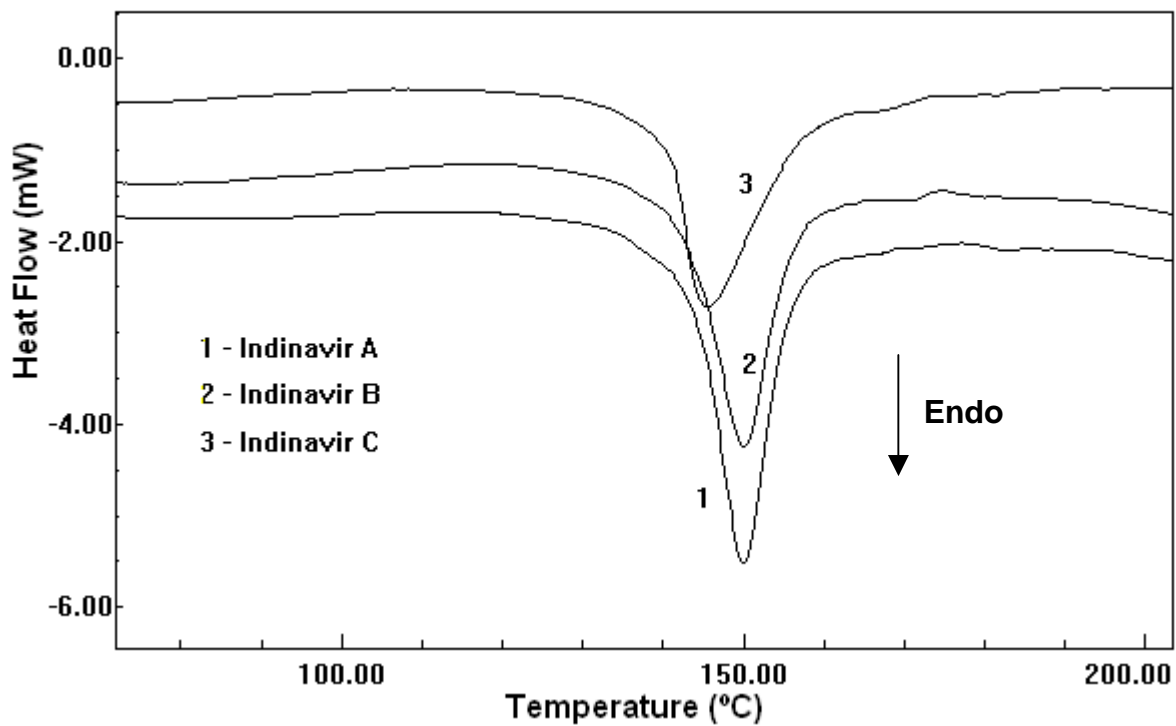


Figure 2 – DSC curves of indinavir sulfate raw materials at 15°C/min.

ANEXO. Artigo III – **Thermal Characterization of Two Solvatos Forms of Indinavir Sulfate Using TG, DSC and DSC - Photovisual**

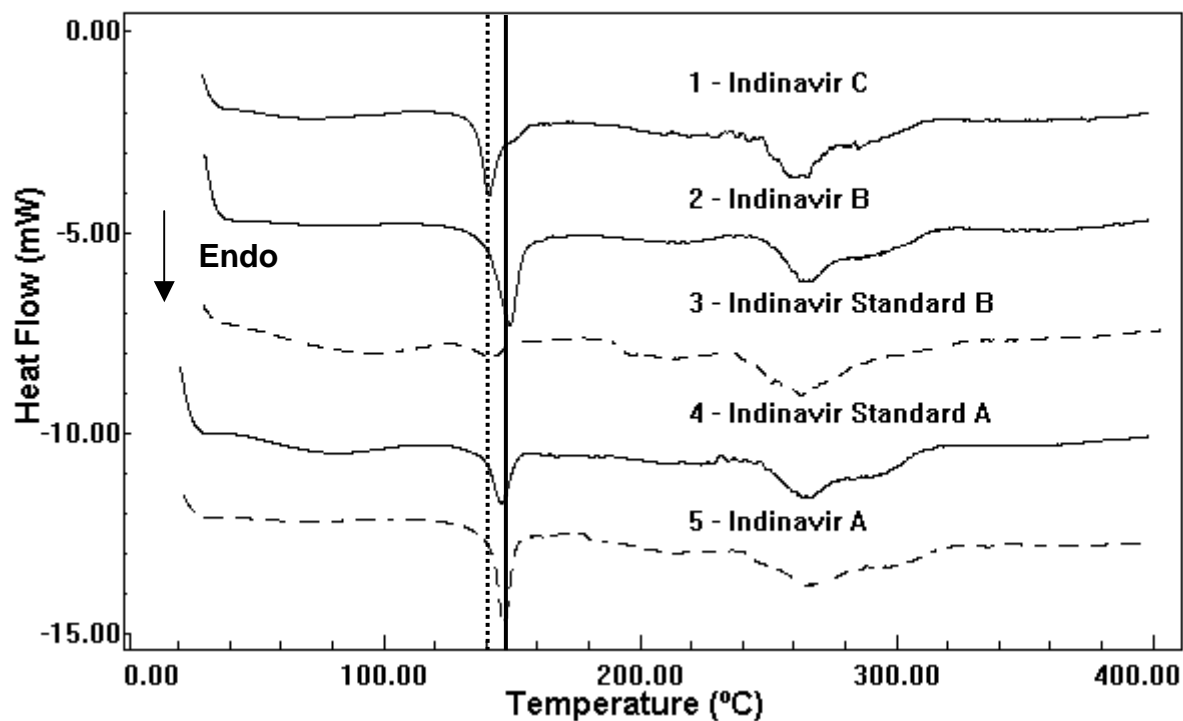


Figure 3 – DSC curves of standards and raw materials of indinavir sulfate.

ANEXO. Artigo III – **Thermal Characterization of Two Solvato Forms of Indinavir Sulfate Using TG, DSC and DSC - Photovisual**

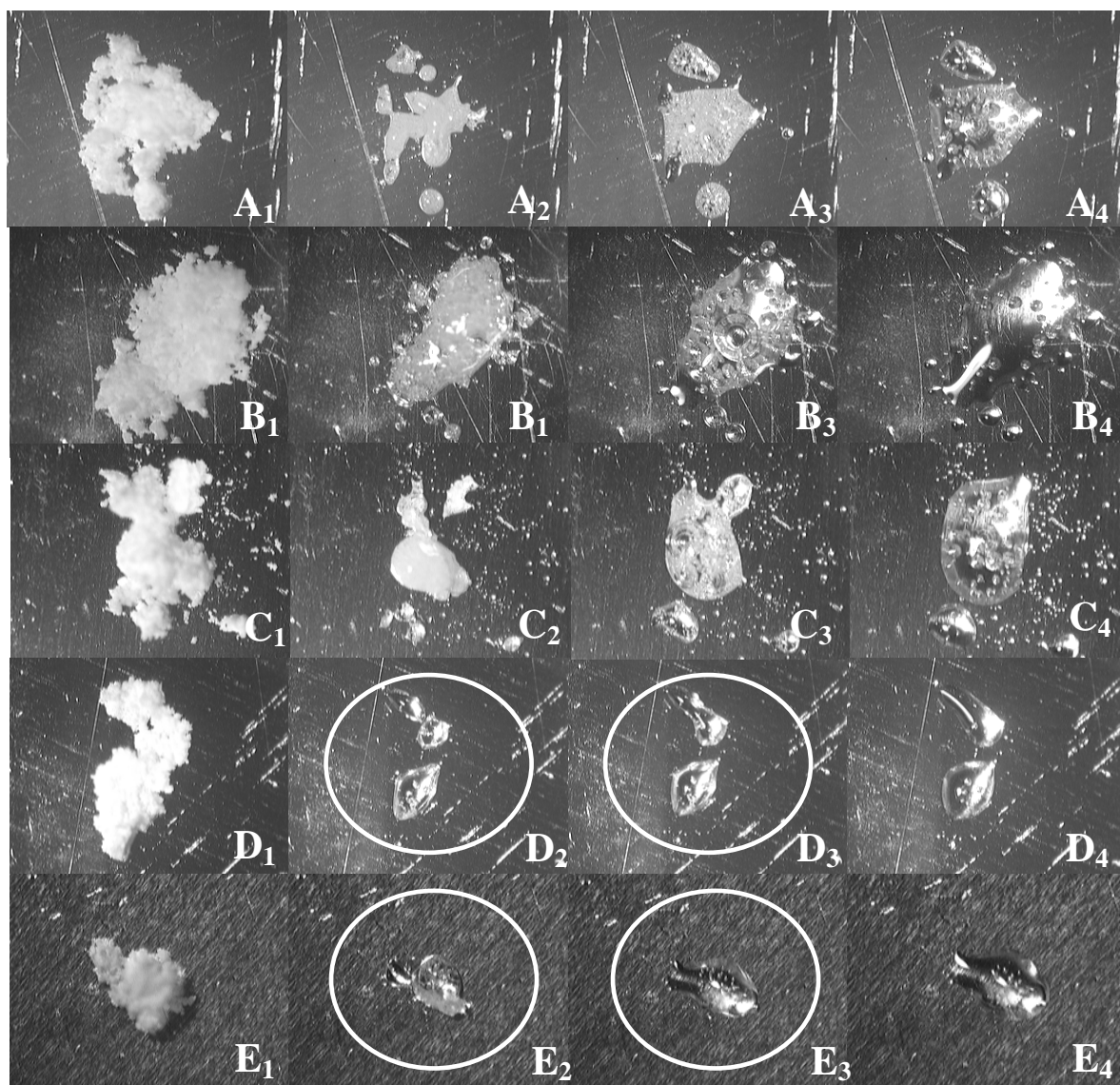


Figure 4 — DSC photovisual: (room temperature) - photos A1, B1, C1, D1 and E1; (151°C) - A2, B2, C2, D2 and E2 ; (160°C) – A3, B3, C3, D3 and E3; (165°C) – A4, B4, C4, D4 and E4 for raw materials C, B, A, standard A and standard B, respectively.

ANEXO. Artigo III – Thermal Characterization of Two Solvatos Forms of Indinavir Sulfate Using TG, DSC and DSC - Photovisual

Table 1 – Percentage of mass loss of indinavir sulfate at 10°C/min.

Samples	Temperature Range (°C) and Percentage of Mass Loss (%)				
	25 – 117	117 – 166	166 – 250	166 – 356	356 – 720
Raw Materials					
A	0.21	3.89	7.62	42.14	44.07
B	0.26	2.97	7.12	42.10	45.72
C	0.43	4.11	6.41	41.48	43.04
Standards					
A	2.34	1.95	6.93	42.24	42.70
B	3.60	0.65	5.94	42.18	44.65

ANEXO. Artigo IV - Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica para Doseamento da Matéria-prima e de Cápsulas de Sulfato de Indinavir por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Tabela 01: Resultados do Desenvolvimento da Metodologia utilizando Temperatura do Forno 25°C, Concentração de 200 ppm e Diluições em Fase Móvel

Métodos	Fase Móvel (FM)	λ_1 (nm)	λ_2 (nm)	A ₁	A ₂	T _R (min)	Fluxo (mL/min)	Volume de Injeção (μ L)	pH da FM
1	K ₂ HPO ₄ /KH ₂ PO ₄ + ACN (40:60)	220	-	1704415	-	4,0	1,0	20	8,0
2	ACN + H ₂ O (40:60)	210	220	NHE	-	-	0,2	6,0	6,6
3	ACN + H ₂ O (40:60)	210	220	3550616	1598245	13,6	1,0	20	6,6
4	ACN + H ₂ O (40:60)	247	260	PAC 128821	PAC 260738	13,7	1,0	20	6,6
5	K ₂ HPO ₄ + ACN (60:40)	220	260	3371225	952640	0,3	1,0	20	8,9
6	NaH ₂ PO ₄ /Na ₂ HPO ₄ + ACN (40:60)	220	260	3679738	1073979	4,2	1,0	20	7,2 (ajustado com H ₃ PO ₄)
7	NaH ₂ PO ₄ /Na ₂ HPO ₄ + ACN (40:60)	220	260	3683356	1065077	3,9	1,0	20	5,7
8	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O (pH=5)+ ACN (40:60)	220	260	3539990	1687080	3,9	1,0	20	5,9
9	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O (pH=5) + ACN (60:40)	220	260	2348237	1061355	9,3	1,0	20	5,7
10	K ₂ HPO ₄ + ACN (60:40)	220	260	3828156	1083109	12,5	1,0	20	7,4 (ajustado com H ₃ PO ₄)
11	KH ₂ PO ₄ (pH=6) + ACN (40:60)	220	260	3896349	1156142	4,0	1,0	20	7,0
12	KH ₂ PO ₄ (pH=6) + ACN (60:40)	220	260	3941336	1123132	11,3	1,0	20	6,8
13	KH ₂ PO ₄ (pH=6) + ACN (50:50)	220	260	3800315	1088745	5,8	1,0	20	6,9

PAC – Pico com Assimetria Caudal
 NHE – Não Houve Estabilidade

ANEXO. Artigo IV - Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica para Doseamento da Matéria-prima e de Cápsulas de Sulfato de Indinavir por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Tabela 02: Resultados do Desenvolvimento da Metodologia utilizando Temperatura do Forno 40°C, Concentração de 200 ppm e Diluições em Fase Móvel

Métodos	Fase Móvel (FM)	λ_1 (nm)	λ_2 (nm)	A ₁	A ₂	T _R (min)	Fluxo (mL/min)	Volume de Injeção (μ L)	pH da FM
14	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O (pH=5) + ACN (60:40)	220	260	4353757,7	2743118,3	14,1	1,0	50	5,96
15	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O + ACN (40:60)	220	260	3592604	2787743	4,0	1,0	50	6,16
16	KH ₂ PO ₄ (pH=6) + ACN (40:60)	220	260	1481699	643955	4,3	1,0	20	7,0
17	KH ₂ PO ₄ (pH=6) + ACN (40:60)	220	260	7669319	3334486	4,2	1,0	50	7,0
18	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O (pH=5) + ACN (40:60)	-	260	-	1080326	4,1	1,0	20	6,10

Tabela 03: Resultados do Desenvolvimento da Metodologia utilizando Temperatura do Forno 40°C, Concentração de 100 ppm e Diluições em Água Ultra-Pura

Método	Fase Móvel (FM)	λ_1 (nm)	λ_2 (nm)	A ₁	A ₂	T _R (min)	Fluxo (mL/min)	Volume de Injeção (μ L)	pH da FM
19	C ₆ H ₅ Na ₃ O ₇ .2H ₂ O (pH=5) + ACN (40:60)	-	260	-	518783	4,0	1,0	20	6,10

ANEXO. Artigo V - Desenvolvimento Farmacotécnico-Industrial para Forma Farmacêutica Cápsula de Sulfato de Indinavir 400 mg

Tabela 04: Estabilidade do Lote Industrial 01

Testes	Especificações	Tempo 0 dia	Tempo 30 dias	Tempo 60 dias	Tempo 90 dias
Peso médio da cápsula	0,75000 g ± 7,5%	0,762397g	0,744831g	0,744426g	0,754955g
Peso médio do conteúdo	0,63000 g ± 7,5%	0,644515g	0,627789g	0,625243g	0,637718g
Desintegração	Não mais que 30 min. (água a 37°C)	3 min e 40 seg	3 min e 58 seg	4 min e 7 seg	4 min e 10 seg
Doseamento	90,0 a 110,0%	100,57%	99,67%	97,97%	97,76%
Umidade por Karl Fischer	Não mais que 5,0%	3,66%	4,25%	4,27%	4,11%
Dissolução	Não menos que 80% em 45 min.	99,72%	99,65%	98,75%	96,37%
Uniformidade de peso	85 a 115%	99,41%	100,88%	98,76%	97,51%

Tabela 05: Estabilidade do Lote Industrial 02

Testes	Especificações	Tempo 0 dia	Tempo 30 dias	Tempo 60 dias	Tempo 90 dias
Peso médio da cápsula	0,75000 g ± 7,5%	0,770764g	0,758132g	0,756087g	0,76242g
Peso médio do conteúdo	0,63000 g ± 7,5%	0,654839g	0,643077g	0,633253g	0,645884g
Desintegração	Não mais que 30 min. (água a 37°C)	3 min e 53 seg	4 min e 10 seg	4 min e 7 seg	4 min e 15 seg
Doseamento	90,0 a 110,0%	101,82%	101,72%	99,85%	99,42%
Umidade por Karl Fischer	Não mais que 5,0%	2,31%	2,53%	2,58%	2,61%
Dissolução	Não menos que 80% em 45 min.	100,81%	102,71%	100,97%	102,87%
Uniformidade de peso	85 a 115%	101,54%	102,01%	99,41%	100,05%

ANEXO. Artigo V - Desenvolvimento Farmacotécnico-Industrial para Forma Farmacêutica Cápsula de Sulfato de Indinavir 400 mg

Tabela 06: Estabilidade do Lote Industrial 03

Testes	Especificações	Tempo 0 dia	Tempo 30 dias	Tempo 60 dias	Tempo 90 dias
Peso médio da cápsula	0,75000 g ± 7,5%	0,758219g	0,757248g	0,750027g	0,754606g
Peso médio do conteúdo	0,63000 g ± 7,5%	0,640022g	0,642677g	0,6293755g	0,638686g
Desintegração	Não mais que 30 min. (água a 37°C)	3 min e 40 seg	3 min e 50 seg	3 min e 45 seg	4 min
Doseamento	90,0 a 110,0%	101,61%	101,49%	100,34%	100,03%
Umidade por Karl Fischer	Não mais que 5,0%	2,16%	2,43%	2,52%	2,67%
Dissolução	Não menos que 80% em 45 min.	101,20%	100,60%	99,97%	102,08%
Uniformidade de peso	85 a 115%	100,63%	100,92%	100,21%	100,44%

**RESUMOS APRESENTADOS EM
CONGRESSOS**

" Responsabilidade com a população e com o profissional Farmacêutico "

CERTIFICADO

Certificamos que a Sra. Rosali Maria Ferreira da Silva,
participou do **CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMÁCIA** (Saúde, o Âmbito Técnico, Político e Social do Farmacêutico), realizado no Palácio de Convenções Anhembi - São Paulo - SP no período de 01 a 04 de outubro de 2003, apresentando os trabalhos intitulados: "DESENVOLVIMENTO DA METODOLOGIA ANALÍTICA POR CLAE PARA O DOSEAMENTO DE SULFATO DE INDINAVIR" e "ESTUDO DE CASO DO INSUMO LACTOSE SPRAY-DRIED EM COMPRIMIDOS DE GLIBENCLAMIDA 5MG".



**Conselho
Federal de
Farmácia**

Dr. Arnaldo Zubioli
Comissão Científica
Coordenador

Dr. Jaldo de Souza Santos
Conselho Federal de Farmácia
Presidente



Congresso Brasileiro de Farmácia

01 a 04 de outubro de 2003
Anhembi - São Paulo



*Conselho
Federal de
Farmácia*

Saúde, o Âmbito Técnico,
Político e Social do
Farmacêutico

Manual do Congressista

IMPLEMENTAÇÃO DA ATENÇÃO FARMACÊUTICA AO PACIENTE HIV+ ATENDIDO NO HOSPITAL DIA DO HOSP. INFANTIL JOANA DE GUSMÃO – FLORIANÓPOLIS – SC.

Autores: D. M. STOLLMEIER¹, C. BLATT², M. R. FARIAS³

^{1,2} Mestrandas e ³ Profa. Orientadora do Programa de Pós-Graduação em Farmácia-UFSC. Rua José Dutra, 70 – Bl.2/305 Trindade – Florianópolis – SC – CEP 88.025-305. – Email: dstollmeier@ig.com.br

INTRODUÇÃO: O Hospital Infantil Joana de Gusmão de Florianópolis – SC; é um hospital especializado de nível terciário com capacidade para 212 leitos. Foi credenciado pelo Ministério da Saúde com o Serviço de Atendimento Especial (SAE), onde desenvolve atendimento aos pacientes HIV+, na modalidade de Hospital Dia desde 1998.

Em junho de 2001 foi instalado no Hospital Dia uma Farmácia Satélite onde o profissional farmacêutico faz a atenção farmacêutica com o objetivo de orientar o uso, manuseio e conservação correta dos medicamentos na residência, verificar possíveis problemas relacionados aos medicamentos (PRM), identificar fatores que dificultem a adesão ao tratamento e propor soluções.

METODOLOGIA: Foram elaboradas estratégias para a orientação aos cuidadores (responsável legal do menor em tratamento) sobre a utilização dos medicamentos como: 1- Confeção de etiquetas com as principais orientações de uso para cada um dos medicamentos da Terapia Anti-retroviral (TARV); 2-Fornecimento de dosadores orais, copos medidores e adaptadores universais para medicamentos líquidos; 3- Realização da dispensação dos medicamentos de forma personalizada; 4-Confeção de Ficha Individual de Acompanhamento Farmacêutico e 5-Elaboração de um cartão de medicamentos.

RESULTADOS: Foram desenvolvidos e implantados: a ficha individual de acompanhamento farmacoterapêutico que, a cada encontro foi atualizada, o que permitiu identificar onde estavam as maiores dificuldades e as falhas no trata-

mento domiciliar; o cartão de medicamentos, para a família utilizar como lembrete em casa; 30 modelos de etiquetas, uma para cada apresentação de medicamento, com cores diferentes, impressas em etiquetas auto-adesiva, nas quais foram colocados os principais itens para a lembrança dos cuidadores sobre a dose, horários e principais problemas relacionado aos medicamentos. Foram fornecidos dosadores orais ou copos medidores e adaptadores para facilitar a retirada e medida mais exata das doses de medicamentos líquidos.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO: Os atendimentos foram efetuados pelo farmacêutico, sempre às 3as. e 5as. feiras à tarde, na farmácia satélite do Hospital Dia. A retirada dos medicamentos é realizada mensalmente, enquanto que a consulta médica é realizada a cada 3 meses. Na medida em que as famílias recebiam a atenção farmacêutica, verificava-se o estreitamento da relação cuidador/farmacêutico. Assim a ficha individual de acompanhamento, permitiu visualizar as necessidades de ajustes de horários e de doses quando necessário, trocas de medicamentos de difícil aceitação e a também a identificação de interações medicamentosas e reações adversas. Pacientes com problemas de saúde ou sociais que exigissem acompanhamento, foram encaminhados ao serviço de apoio médico e ou psico-social do Hospital Dia. A atuação do farmacêutico no processo, mostrou que é possível a melhora da compreensão da importância do tratamento e da adesão à terapia anti-retroviral, para a melhora da qualidade de vida do paciente e seus familiares.



DESENVOLVIMENTO DA METODOLOGIA ANALÍTICA POR CLAE PARA O DOSEAMENTO DE SULFATO DE INDINAVIR

R.M.F.SILVA^{1,3}, F.H.C.OLIVEIRA¹, F.P.M.MEDEIROS^{1,3}, D.B.MONTEIRO^{1,3}, J.M.F.BRAGA³, M.M.ALBQUERQUE, P.J.ROLIM NETO^{1,3}

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, ²Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos

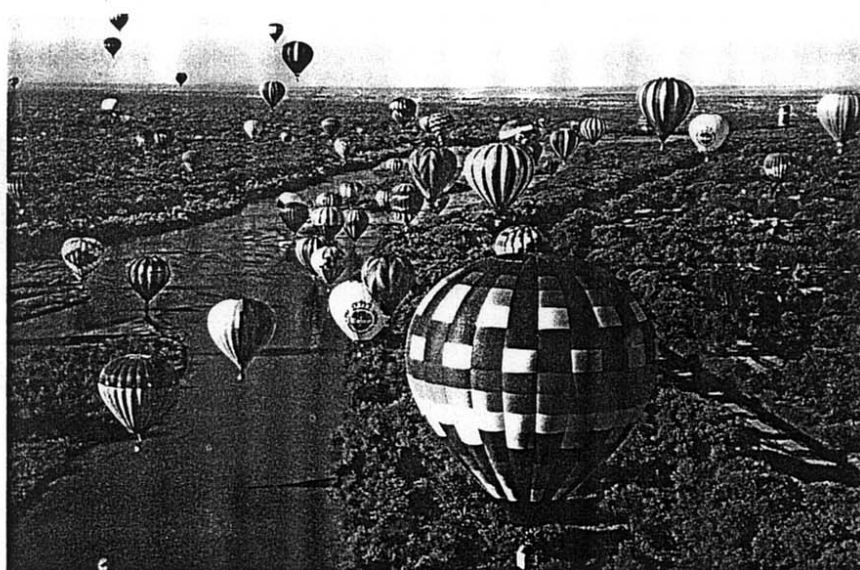
Rua Prof. Artur de Sá S/N, Cidade Universitária, Recife – PE.

³Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco – Largo de Dois Irmãos, 1117, Dois Irmãos – Recife-PE

Introdução: O Sulfato de Indinavir é um anti-retroviral, inibidor da enzima protease, que atenderá aos requisitos do Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) em compor o coquetel anti-AIDS. Objetivo: Desenvolver uma metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência para o doseamento da matéria-prima Sulfato de Indinavir. Métodos: Em um cromatógrafo líquido Shimadzu[®], foram testadas treze metodologias, avaliando os seguintes parâmetros: fase móvel (modificando as proporções dos tampões K₂HPO₄ e KH₂PO₄, Na₂HPO₄ e NaH₂PO₄, C₆H₅Na₃O₇.2H₂O e H₂O com

acetonitrila (ACN)), comprimentos de onda (λ) (210, 220, 247 e 260 nm), fluxo (0,2 e 1,0 mL/min) e volume de injeção (6,0 e 20,0 mL). A temperatura do forno e a concentração utilizadas foram de 25°C e 0,2 mg/mL, respectivamente. Resultados e Discussão: Os resultados estão descritos na tabela 01. A metodologia escolhida (11) foi a que apresentou um pico resolvido, sem rabeamento, com maior área de detecção e nas condições ideais para conservação da coluna, além de baixo custo operacional. Conclusão: Após seleção do método 11, iniciaremos a sua validação seguindo a Resolução RE nº 899, de 29 de Maio de 2003.

PROCEEDINGS OF THE 31ST
North American
Thermal Analysis Society
Conference



Albuquerque Balloon Fiesta by Ron Behrmann

NATAS
NORTH AMERICAN THERMAL ANALYSIS SOCIETY

September 22-24, 2003
ALBUQUERQUE, NEW MEXICO, USA

Abstract Booklet Provided Courtesy of  **PerkinElmer**[®]
precisely.

PROCEEDINGS OF
The 31st Annual Conference of the
North American Thermal Analysis Society



September 22-24, 2003
Albuquerque, NM

Program Chair
THOMAS RAMOTOWSKI
Naval Undersea Warfare Center

Proceedings Editor
MICHAEL J. RICH
Michigan State University

Thermal Characterization of Two Solvates Forms of Indinavir Sulfate Using TG, DSC and DSC-Photovisual

Rosali M. F. Silva², Ticiano G. do Nascimento¹, Juliana S. Alencar², José W. E. Veras¹,
Pedro J. R. Neto^{2,3} and Rui O. Macêdo¹

¹ UDEM / LTF / UFPB, Campus I - João Pessoa - PB, ² Departamento de Ciências Farmacêuticas - UFPE, ³ Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco - LAFEPE, Recife - PE - E-mail: ruimacedo@ltf.ufpb.br

ABSTRACT

Indinavir sulfate has been used as inhibitor of protease enzyme of HIV virus and has been associated to other drugs in anti-AIDS cocktail. The purpose of this paper has been evaluated thermal characteristics of Indinavir Sulfate (IS) raw materials by thermal analysis techniques. The standards A and B and raw materials A, B and C were acquired from three supplies. The DSC curves IS were performed in calorimeter Shimadzu, model DSC-50, coupled to a photovisual system connected to Olympus microscopy, model VCC-D520, heating rate of 5, 10, 15 and 20 °C.min⁻¹, under nitrogen atmosphere and temperature range of 25–400°C. The samples were packed in aluminum cell with mass of 2.00 mg ± 10%. The TG curves were performed in Shimadzu thermobalance, model TGA-50H, in alumina cell, heating rate of 10°C.min⁻¹, under air atmosphere and temperature range of 25-900°C. The sample mass was 5.00mg ± 10%. The DSC curves of Indinavir sulfate have presented two endothermic peaks in different temperatures of fusion. The raw materials A, B and C presented peak of fusion and heat of fusion of 147.2 °C and -62.0 J/g; 149.3 °C and -63.7 J/g; 141.3 °C and -54.4 J/g, respectively. The standards A and B presented 146.2 °C and -35.8 J/g; 142.0 °C and -21.3 J/g, respectively. The dot line and solid line have showed temperature range of fusion for two pseudo-polymorphic forms from indinavir sulfate. The standard B and raw material C show hydration grade different from standard A and raw materials A and B (Figure 1).

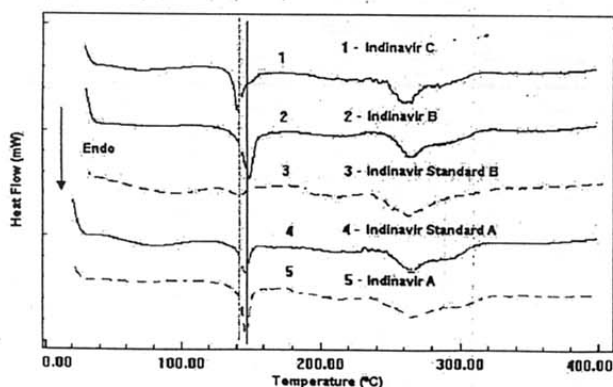


Figure 1 – DSC curves of standards and raw materials of indinavir sulfate.

DSC-photovisual has confirmed this process. TG curves have demonstrated different water percent in temperature range of 25-117°C and 117-165°C. The sulfate presence in molecule has occurred a formation of two sorts of solvates with change in peak of fusion. This difference in physicochemical properties can have consequences in solubility of drug.

Certificate



This is to certify that

The poster entitled

"CHARACTERIZATION OF INDINAVIR SULPHATE FOR CERTIFICATION OF THE SUPPLIERS
- SILVA, R., OLIVEIRA, F., NASCIMENTO, T., MEDEIROS, F., MONTEIRO, D., MACEDO, R.,
MIRACY MUNIZ DE ALBUQUERQUE, ROLIM NETO, P."

was presented during the 4th Congress of Pharmaceutical Sciences,
held in Ribeirão Preto, SP, Brazil.

June 29 to July 02, 2003

Muritiba

Director - FCFRP - USP

CÓPIA

Organizing Committee

Organizing Committee

Dr. Carem Gledes Vargas Rechia
Dr. Fernando Luis Barroso da Silva
Dr. Mônica Tallarico Pupo
Dr. Norberto Peoporine Lopes
Dr. Renata Fonseca Vianna Lopez
Dr. Sérgio Akira Uyemura



XXVI ENEF LT

**XXVI Encontro Nacional dos
Estudantes de Farmácia**



**O Estudante de Farmácia
Construindo um Brasil Melhor**

20 a 26 de julho de 2003

Cuiabá - MT

A 28

ANAIS

CARACTERIZAÇÃO DE SULFATO DE INDINAVIR UTILIZANDO A CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL FOTOVISUAL PARA OBTENÇÃO DE CÁPSULAS GELATINOSAS DURAS

Fábio Henrique Cavalcanti de Oliveira, Rosali Maria Ferreira da Silva, Ticiano Gomes do Nascimento, Flávia Patrícia Morais de Medeiros, Déborah Bezerra Monteiro, Rui Oliveira Macêdo, João Rui Barbosa de Alencar, Miracy Muniz de Albuquerque, Pedro José Rolim Neto
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)
Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE)

(Indinavir, cápsula, DSC-fotovisual)

Objetivo: Avaliar o comportamento térmico do *Sulfato de Indinavir* frente à técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial Fotovisual (DSC-Fotovisual) e confirmar os resultados obtidos na Termogravimetria e Calorimetria Exploratória Diferencial, visando a certificação dos fornecedores.

Metodologia: As curvas DSC-Fotovisual do *Sulfato de Indinavir* foram obtidas num Calorímetro Exploratório Diferencial, acoplado a um sistema Fotovisual, conectado a um microscópio, numa faixa de temperatura de 25-400°C, utilizando uma panela de alumínio e a atmosfera utilizada foi N₂ com fluxo de 100mL.min⁻¹. Utilizaram-se dois fabricantes (A e B), avaliando a matéria-prima e o padrão.

Resultados e Discussão: Os padrões (A e B) apresentaram uma pureza melhor do que suas respectivas matérias-primas podendo ser confirmado na figura 01 na qual foi observada uma maior coalescência do que na figura 02. As matérias-primas (A e B) e o padrão (A) obtiveram os pontos de fusão: 147,2°C, 149,3°C e 146,2°C, respectivamente. O padrão (B) cujo ponto de fusão foi 142,0°C, apresentou 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.



Conclusão: As matérias-primas analisadas para o *Sulfato de Indinavir* atendem à qualidade requerida, evidenciada no estudo de Análise Térmica, estando aptas a continuarem os estudos para serem certificadas, exigência da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), quando do desenvolvimento de medicamentos genéricos.

Referências Bibliográficas:

R. O. MACÊDO, *et al.*, An. Assoc. Bras. Quim., 47(4), 313-315. 1998. / C.F.S. ARAGÃO, *et al.*, J. Therm. Anal. Cal., 56 (1999) 1323-1327. / R. O. MACÊDO *et al.*, J. Therm. Anal. Cal., 59 (2000) 657-661.

Categoria: Tecnologia de Medicamentos

Responsável: Fábio Henrique C. de Oliveira

Telefone: (81) 3461-1330

Correio eletrônico: fabio_hco@ig.com.br