

ESTUDO DE ESTRESSE SOB CONDIÇÕES DE OXIDAÇÃO DO ANTI-HIPERTENSIVO CAPTOPRIL

Kímberly Stefanny da Silva (1); Steno Lacerda de Oliveira (1)*; Alan Diego Silva Frade (2); Cláudia Cristina Bezerra do Vale (3); Kaio Lopes de Lucena (4)

Faculdade de Ciências Médicas da Paraíba FCM-PB, kimberly_stefanny@hotmail.com

Resumo: A hipertensão arterial é uma doença que acomete um número significativo de pessoas em todo o mundo, sendo a enfermidade mais frequente das doenças cardiovasculares, considerado um grave problema de saúde pública no Brasil. O captopril é um fármaco inibidor da enzima conversora da angiotensina (IECA) usado para o tratamento da hipertensão arterial. Com o surgimento dos medicamentos similares e genéricos no mercado, levantou-se o questionamento se esses teriam a mesma qualidade, apresentando os resultados equivalentes aos medicamentos de referência. Para verificar a qualidade de produtos medicamentosos, e com a finalidade de garantir a integridade destes, são preconizados estudos de estabilidade. Portanto, esse trabalho tem por objetivo realizar um estudo comparativo do perfil do Rf (Fator de retenção), por cromatografia em camada delgada (CCD), entre comprimidos de medicamentos genérico e similar do captopril antes e após serem submetidos a condições oxidativa para estudo de degradação forçada. Para realização do estudo de degradação forçada sob condições de oxidação, utilizou-se uma solução de peróxido de hidrogênio a 3% a temperatura ambiente e a 60°C por 24 horas. Através dos dados obtidos, foi possível observar que a solução da amostra de captopril apresentou degradação em condições oxidativa. Logo, a CCD mostrou ser um método adequado para determinação do perfil de degradação do captopril, sendo um método simples, rápido e de baixo custo, podendo ser aplicado para análise qualitativa de captopril forma farmacêutica de comprimido em ensaios de rotina do Controle de Qualidade deste fármaco para garantir a segurança e eficácia do fármaco.

Palavras-chave: Estabilidade; Degradação forçada; Captopril.

“Quebra de seção contínua”

Introdução

A hipertensão arterial é uma doença que acomete um número significativo de pessoas em todo o mundo, sendo a

enfermidade mais frequente das doenças cardiovasculares, considerado um grave problema de saúde pública no Brasil. Com o objetivo de controlar a pressão arterial são utilizados medicamentos anti-hipertensivos, sendo representados, entre outros, pelo captopril.

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

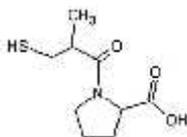


Figura 1. Estrutura do captopril

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

Com o surgimento dos medicamentos similares e genéricos no mercado, levantou-se o questionamento se esses teriam a mesma qualidade, apresentando os resultados equivalentes aos medicamentos de referência. Para isso, a indústria farmacêutica utiliza diferentes ferramentas analíticas voltadas ao controle da qualidade de insumos e medicamentos, em cumprimento à legislação e à necessidade dos pacientes. Muitas vezes,

para atender aos requisitos de qualidade, é necessário o emprego de métodos instrumentais de custo elevado, como a cromatografia líquida de alta eficiência, a cromatografia gasosa e a eletroforese capilar (MALUF, 2008).

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

Para verificar a qualidade de produtos medicamentosos, e com a finalidade de garantir a integridade química, física, microbiológica, terapêutica e toxicológica do fármaco e da forma farmacêutica dentro dos limites especificados, sob influência dos fatores ambientais em função do tempo, são preconizados estudos de estabilidade (SILVA, 2009).

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

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

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

Metodologia

Teste de Estresse

O teste de estresse é definido como um teste de estabilidade para fármacos e medicamentos sob condições extremas. Este teste é importante dentro do planejamento para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica, pois a investigação da estabilidade intrínseca do fármaco fornece informações a cerca de formulação e direciona na escolha dos tipos de adjuvantes, aditivos de proteção específicos e de acondicionamento, que provavelmente

melhorarão a integridade do fármaco e do produto. Demonstrando assim, que o conhecimento do comportamento químico do fármaco e excipientes pode ser usado para garantir a estabilidade da forma farmacêutica desejada (REYNOLDS et al., 2002; AULTON, 2005).

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

Este procedimento inclui a realização de testes sob condições de estresse especificadas pela ANVISA, através do Informe Técnico nº1 de 15 de julho de 2008 (Tabela 1), que resultaram na apresentação da análise dos produtos de degradação nos estudos de estabilidade acelerada e de longa duração com a forma farmacêutica final.

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

Aquecimento	60 °C
Umidade	75% UR ou maior
Solução ácida	0,1 M HCl

Solução básica	0,1 M NaOH
Solução oxidativa	3% H ₂ O ₂
Fotolítica	UV-B fluorescente

Fonte: BRASIL, 2008.

Teste de degradação oxidativa

A degradação oxidativa é uma das principais causas de instabilidade de fármacos, dentre os mais conhecidos e estudados têm-se os esteróides, antibióticos, vitaminas, óleos e gorduras. A oxidação envolve a remoção de um átomo eletropositivo, radical ou elétron, ou a adição de um átomo eletronegativo ou radical. Muitas oxidações são reações em cadeia, que procedem lentamente sob a influência do oxigênio molecular. Tal processo de reação é referido como uma auto-oxidação (FLORENCE & ATTWOOD, 2003).

O peróxido de hidrogênio é utilizado para criar as condições de estresse empregadas para o estudo de oxidação. A concentração de peróxido utilizada varia entre 1% a 30% (SILVA et al., 2009).

Os estudos de estresse oxidativo foram conduzidos com a solução concentrada do fármaco de 50 µg.ml⁻¹ em 3% de H₂O₂ à temperatura ambiente e a 60°C durante o período de 24 horas. Para verificação do perfil de degradação, foi utilizado cromatografia em

camada delgada analítica, com sílica gel como fase estacionária e eluídas com diclorometano, hexano e ácido acético glacial (2:1:0,5 v/v/v) e reveladas em câmara e ultravioleta como comprimento de onda 254 nm, utilizando esse sistema de solventes foi possível identificar a amostra como sendo captopril, pois as manchas obtidas entre solução padrão e amostras foram correspondentes em relação à posição e intensidade (Figura 2).

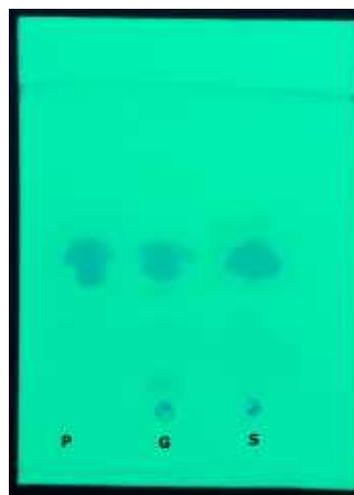


Figura 2. Perfil cromatográfico (CCD) das amostras padrão (P), genérico (G), similar (S) do captopril, antes de serem submetidas a estresse oxidativo; ambos visualizados através da câmara de UV a 254 nm. Fase móvel contendo hexano, diclorometano e ácido acético glacial (2:1:0,5 v/v/v).

Preparo da amostra

Para os estudos de estresse oxidativo foram pesadas 0,050 g do padrão, dois comprimidos genérico e dois comprimidos

similares de captopril, correspondendo a aproximadamente 0,050 g do princípio ativo. As amostras foram solubilizadas em 1 ml do solvente diclorometano, obtendo-se uma solução padrão de 5 mg/ml, posteriormente foram transferidas para um balão volumétrico de 100 ml contendo 50 ml da solução de H₂O₂ a 3%, e em seguida avolumadas a 100 mL. Feito isso, o balão foi devidamente tampado, vedados com papel alumínio e reservados à temperatura ambiente e a 60°C durante 24 horas. As amostras foram preparadas em triplicata. Após esse período foram analisadas por cromatografia em camada delgada analítica para análise do perfil cromatográfico.

Resultados e Discussão

Após a análise dos dados obtidos, foi possível observar por CCD, que a solução da amostra de captopril apresentou degradação em condições oxidativa (Figura 3 e 4), corroborando com Paiva et al., 2015 (Figura 5)..



Figura 3. Perfil cromatográfico (CCD) das amostras padrão (P), genérico (G), similar (S) do captopril, submetidas à degradação oxidativa (H₂O₂ 3%) a temperatura ambiente por 24 horas.



Figura 4. Perfil cromatográfico (CCD) das amostras padrão (P), genérico (G), similar (S) do captopril, submetidas à degradação oxidativa (H₂O₂ 3%) à temperatura de 60°C por 24 horas.

A degradação do captopril segue uma cinética de ordem zero, levando a formação do dissulfeto de captopril, sendo este considerado o seu principal produto de

degradação (Figura 5), pois é o mais abundante, já que a hidrólise da amida é insignificante. Esta degradação é prejudicial ao tratamento terapêutico, pois uma elevada concentração de dissulfeto de captopril implica na diminuição do teor do ativo. Além disso o dissulfeto de captopril causará o aparecimento dos efeitos indesejáveis no organismo quando estiver acima do valor máximo permitido, que segundo a 4ª edição da Farmacopéia Brasileira, a quantidade máxima é de 3% (PAIVA et al., 2015; SOUZA, 2011).

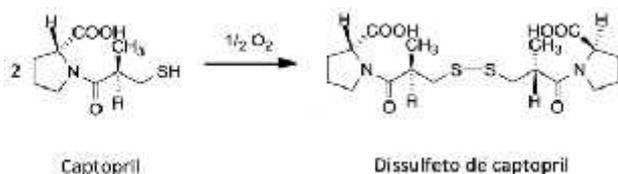


Figura 5. Reação de degradação do captopril com a formação de dissulfeto de captopril (PAIVA et al., 2015).

A oxidação do captopril ocorre via radicais livres e, como a maioria dos fármacos em sua forma reduzida, apenas 20% de oxigênio atmosférico já significa potencial risco de instabilidade para essas moléculas. O captopril sofre auto-oxidação, uma vez que é degradado por meio de reação de oxidação espontânea, sob condições brandas e inicializada por radicais livres (PAIVA et al., 2015).

Conclusão

De acordo com os resultados, conclui-se que diante dessa condição experimental, o captopril é susceptível à oxidação, obtendo-se a degradação total deste.

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

A utilização de cromatografia em camada delgada analítica mostrou-se eficiente para verificar o perfil de degradação do captopril, sendo necessárias técnicas analíticas mais sensíveis para identificação dos produtos de degradação.

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

REFERÊNCIAS

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

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hipertensão atinge 24,3% da população adulta**

Disponível em:

<<http://www.brasil.gov.br/saude/2013/11/hipertensao-atinge-24-3-da-populacao-adulta>>,

Acessado em 10/03/2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) **Informe Técnico nº 01, de 15.07. 2008. Esclarecimento sobre o item 2.9 do anexo da Resolução RE nº1 de 29/07/2005, que trata do Guia para realização dos estudos de estabilidade.** Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 julho 2008.

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

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

(83) 3322.3222

contato@conbracis.com.br

www.conbracis.com.br

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

FLORENCE, A. T., ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia.** 3ª ed. São Paulo: Edusp; 2003.

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

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

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

Resolução RDC nº 12, 02 de janeiro de 2001. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/12_01rdc.htm>. Acesso em: 27 de março de 2016.

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

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

SOUZA, J. A. L. **Desenvolvimento de uma metodologia baseada na espectroscopia no infravermelho próximo para determinação do produto de degradação do captopril em comprimidos.** Recife. Dissertação [Mestrado em Produção e controle de qualidade de medicamentos] - Universidade Federal de Pernambuco; 2011.