

# Avaliação comparativa teórica entre métodos farmacopeicos para análise do dinitrato de isossorbida em comprimidos sublinguais

**Valdineia Santos Dias\*<sup>1</sup>, Amanda dos Santos Teles Cardoso<sup>1</sup>, Aylla Nunes Conceição<sup>1</sup>, Edith Cristina Laignier Cazedey<sup>1</sup>**

Núcleo de Pesquisa e Análise de Medicamentos (NuPAM), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia

Rua Barão de Jeremoabo, s/n, 40170-290, Salvador, Bahia, Brasil

\*wneadias@hotmail.com

## Resumo

A comparação de métodos analíticos compendiais pode nortear o desenvolvimento de novos métodos capazes de otimizar as análises farmacêuticas. Foi realizada a comparação teórica dos métodos analíticos compendiais para o doseamento do vasodilatador dinitrato de isossorbida (DNIS) em comprimidos sublinguais das Farmacopeias Britânica, Americana e Japonesa, a partir das variáveis: facilidade de aplicação do método farmacopeico na rotina laboratorial, classificação do método como um método analítico indicativo de estabilidade (MAIE) e contribuição do método com a Química Analítica Verde. Este trabalho apontou que embora fáceis de serem aplicados na rotina laboratorial, os métodos farmacopeicos podem ser otimizados para atender aos princípios da Química Analítica Verde e o desenvolvimento de MAIE.

**Palavras chaves:** dinitrato de isossorbida, farmacopeia, cromatografia líquida de alta eficiência

## 1. Introdução

O dinitrato de isossorbida (DNIS), fármaco usado nas doenças cardiovasculares, faz parte da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais, porém não possui monografia na Farmacopeia Brasileira (1), compêndio oficial de referência para as análises de fármacos e medicamentos no Brasil. No entanto, farmacopeias elaboradas por outros países podem ser utilizadas para os ensaios de qualidade do DNIS.

Apesar de efetivos para o controle de qualidade, alguns métodos farmacopeicos não consideram questões atuais da área do controle de qualidade como a Química Analítica Verde e a importância dos métodos analíticos indicativos de estabilidade (MAIE). Um MAIE é aquele adequado para analisar amostras de estabilidade, validado, capaz de detectar ao longo do tempo mudanças nas propriedades físicas, químicas e/ou microbiológicas de uma substância (2). Assim, o desenvolvimento de novos métodos analíticos acaba por ser impulsionado, sendo a

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) uma das principais técnicas analíticas utilizadas com esta finalidade.

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo comparar, teoricamente, os métodos analíticos compendiais para o doseamento do DNIS em comprimidos sublinguais descritos nas Farmacopeias Americana (3), Britânica (4) e Japonesa (5), a partir das variáveis: facilidade de aplicação do método na rotina laboratorial, classificação do método como um MAIE e contribuição do método com a Química Analítica Verde.

## Resultados e discussão

Dentre as Farmacopeias analisadas, observou-se que os métodos para a quantificação do DNIS em comprimidos sublinguais (Tabela 1) são de fácil reprodução, a considerar a curta duração das corridas cromatográficas (tempo de retenção do DNIS inferior a dez minutos), o uso de solventes comercialmente disponíveis e as análises feitas

**Tabela 1.** Métodos analíticos compendiais das Farmacopeias Americana, Britânica e Japonesa para análise do DNIS em comprimidos sublinguais

Condições cromatográficas							
Farmacopeia	Fase móvel	Detector UV (nm)	Fluxo (mL.min <sup>-1</sup> )	Tamanho da coluna (mm)	Volume de injeção (µL)	Tempo de retenção (min)	Volume de solvente gasto por análise (mL)*
<b>Americana (2018)</b>	Água:tampão acetato de amônio: metanol (35:10:55, v.v <sup>-1</sup> )	220 nm	1,0	250x4	20	0,75	Água: 35 Tampão acetato de amônio: 10 Metanol: 55
<b>Britânica (2009)</b>	Etanol:2,2,4-trimetilpentano (15:85, v.v <sup>-1</sup> )	230nm	1,0	250x4,6,10	20	5,0	Etanol: 75 Trimetilpentano: 425
<b>Japonesa (2011)</b>	Água:metanol (11:9, v.v <sup>-1</sup> )	220 nm	-	150x4,6	10	6,0	Água: 330 Metanol: 270

\*Cálculo do volume gasto de solvente por análise: proporção do solvente x tempo de retenção, em 100mL.

no modo isocrático, que não obriga o acondicionamento da coluna cromatográfica entre corridas e ajuda a reduzir o tempo total gasto com a análise na rotina laboratorial (6).

Apesar destes aspectos positivos, os métodos em estudo não são classificados como MAIE. Isso não é um problema quando o objetivo da análise é o doseamento do DNIS em um lote que irá para o mercado, mas, quando se discute amostras de estudo de estabilidade, esses métodos são limitados em relação à confiabilidade para detectar mudanças no medicamento ao longo do tempo. Essa lacuna já impulsionou pesquisas em prol do desenvolvimento de MAIE para o DNIS (7,8).

A CLAE com detector ultravioleta (UV) está presente nos ensaios farmacopeicos dos compêndios avaliados neste estudo, por ser vantajosa e largamente aplicada na análise de fármacos (9). Porém, para o desenvolvimento de MAIE não seria o mais apropriado manter o detector UV, pois este

não permite a verificação da pureza dos picos de interesse frente a outras substâncias que possam co-eluir com ele, como os produtos de degradação (Figura 1).

Apesar disso, se necessário o uso de detectores UV, é possível provar indiretamente a pureza de pico através de alterações nas condições cromatográficas que interferem na separação e o uso do padrão analítico para confirmação da identidade do analito (10). No entanto, isso resultaria em um maior consumo de solventes e fármacos e aumentaria o tempo do desenvolvimento do método com provável aumento do custo e quantidade de resíduos. A ANVISA recomenda que os MAIE sejam desenvolvidos por CLAE com detector de arranjo fotodiodo, que permite a varredura de uma faixa de comprimentos de onda, em tempo real, e possibilita a avaliação da pureza de pico (2). O uso de detectores de espectrometria de massas (EM) juntamente com DAD é, contudo, fundamental para a confirmação da identidade do analito, o qual pode indicar co-eluições com outros componentes, como por exemplo, produtos de degradação do composto de interesse. A quantificação do analito em casos que impedem que o detector DAD seja empregado, também pode ser feita com LC/MS (2,11).

Do ponto vista da Química Analítica Verde, o procedimento analítico apresentado pela Farmacopeia Britânica para a análise do DNIS é inadequado pelo uso do trimetilpentano, solvente altamente tóxico para humanos e para o meio ambiente, especialmente o aquático (11). Os métodos analíticos das outras farmacopeias demonstram que solventes atóxicos como a água, e menos tóxicos, como o metanol, podem ser utilizados para análises farmacêuticas do DNIS. Comparando-se os tempos de retenção e os volumes de solventes dos métodos em estudo, o da Farmacopeia Americana (0,75 min) gera menor volume de resíduo de solvente orgânico e, por isso, estaria mais alinhado aos princípios da Química Verde (13).

Uma otimização possível para o método da Farmacopeia Americana consiste na retirada da solução tampão, tendo em vista que que soluções tamponantes podem promover a abrasão, corrosão e cristalização pela presença de sais e reduzir a vida útil



**Figura 1.** Exemplo do problema da identificação do produto de degradação devido à co-eluição com o pico principal.

de colunas e sistemas cromatográficos (6,13). Uma demonstração desta possibilidade é que a Farmacopeia Japonesa também utiliza como fase móvel água e metanol, porém sem o tampão. Além disso, considerando que o uso do tampão se destina a manter estável o valor do pH da solução aquosa e evitar o aparecimento de deformações no pico cromatográfico pelo surgimento de estruturas ionizadas do fármaco, uma pesquisa feita a partir do software Chemicalize® (14) demonstrou que a molécula do DNIS permanece totalmente não ionizada em qualquer valor de pH, não necessitando o uso do tampão para este fim.

Em conclusão, este trabalho demonstrou que comparação de métodos analíticos compendiais pode nortear o desenvolvimento de métodos analíticos capazes de otimizar as análises farmacêuticas e melhorar os processos em prol da qualidade e segurança dos medicamentos, reduzindo também o impacto ambiental exercido pelos laboratórios analíticos. Embora o método da Farmacopeia Americana tenha vantagens como a menor geração de resíduos e uso de solventes pouco poluentes, a comparação dos métodos farmacopeicos analisados evidenciou que diversos parâmetros destes procedimentos de análise do DNIS podem ser aprimorados para atender às demandas atuais da área de controle de qualidade e desenvolvimento de métodos analíticos indicativos de estabilidade, dentro do âmbito da Química Verde.

## Referências

- [1] FARMACOPEIA BRASILEIRA. 6 ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária (2019).
- [2] Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para obtenção do perfil de degradação, e identificação e qualificação de produtos de degradação e medicamentos. GUIA nº 4, versão 1, de 04 de dezembro de 2015.
- [3] FARMACOPEIA AMERICANA (USP30/NF25). Estados Unidos: United States Pharmacopeial Convention, (2018).
- [4] FARMACOPEIA BRITÂNICA. Londres: The Stationery Office, (2009).
- [5] FARMACOPEIA JAPONESA. 16 ed. Japão: Ministério da Saúde, (2011).
- [6] C.H. Collins, G.L. Braga, P.S. Bonato, Fundamentos de cromatografia. São Paulo: Editora da Unicamp, (2006).
- [7] S. Kassey, R.P. Pulla, K.V. Prakash, Development and validation of stability indicating RP-HPLC method for simultaneous estimation of isosorbide dinitrate and hydralazine HCl in combined pharmaceutical dosage form. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 1, n. 4, p. 219-229, (2014).
- [8] M.L. Pola, D.S. Gowri, A novel validated stability indicating RP-LC method for simultaneous quantitative estimation of hydralazine hydrochloride and isosorbide dinitrate in bulk drug and combined tablet dosage form. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, v. 4, n. 2, p. 1154-1169, (2015).
- [9] G.A. Shabir, Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *Journal of Chromatography*, v. 987, n. 1, p. 57-66, (2003).
- [10] M. Blessy, R.D. Patel, N.P. Prajesh, Y.K. Agrawal, Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs—A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 4, n. 3, p. 159-165, (2014).
- [11] S.W. Baertschi. *Trends Anal. Chem.* 25(8), 758-767 (2006).
- [12] U.S. Environmental Protection Agency Integrated Risk Information System (IRIS) on 2,2,4-Trimethylpentane. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC. (1999).
- [13] B.A. Marco, B.S. Rechelo, E.G. Tótolí, A.C. Kogawa, H.R.N. Salgado, Evolution of green chemistry and its multidimensional impacts: A review. 27, 1-8 (2019).
- [14] Chemicalize.org [Base de dados]. ChemAxom. Isosorbide dinitrate. Acesso em: 05 jan 2017. Disponível em: [www.chemicalize.org](http://www.chemicalize.org).