

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ANÁLISE INSTRUMENTAL

ADRIANE CRISTINA MATTJIE

**ESTUDO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DO
ACETAMINOFEM**

TOLEDO

2019

ADRIANE CRISTINA MATTJIE

ESTUDO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DO
ACETAMINOFEM

Trabalho apresentado ao Programa de Pós Graduação em Análise Instrumental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Especialista.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Viviane da Silva Lobo

TOLEDO

2019

TERMO DE APROVAÇÃO

MONOGRAFIA

ADRIANE CRISTINA MATTJIE

**ESTUDO DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA O CONTROLE DE QUALIDADE DO
ACETAMINOFEM**

Monografia apresentada como forma de avaliação para o curso de Especialização em Análise Instrumental da UTFPR campus Toledo, e aprovado em 08 de Junho de 2019 pela banca examinadora abaixo.

Dra. Viviane da Silva Lobo

Orientadora – UTFPR

Dr. Maurício Ferreira da Rosa

UNIOESTE

Dr. Lincoln Figueira Marins Coutinho

Toledo, 16 de Junho de 2019

RESUMO

Métodos analíticos são necessários para detectar e identificar impurezas para o controle de qualidade, passando por ensaios laboratoriais para garantir e assegurar sua segurança de cada lote de insumo, e deve ser realizado antes do processo de fabricação do medicamento, para diminuir potenciais riscos que possam colocar em perigo a vida do consumidor. Com base nos estudos, comparou-se as técnicas que vem sendo utilizadas na determinação do acetaminofem e de seus contaminantes, apontando as principais vantagens e desvantagens de cada técnica. O trabalho traz como sugestão a utilização do método de espectroscopia na região do infravermelho para a identificação do acetaminofem, e na região do UV-Vis para o doseamento. Enquanto que, para os ensaios de impurezas, torna-se necessário a adoção de técnicas mais onerosas, como o método de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado para a determinação de impurezas elementares e a utilização do método de cromatografia líquida de alta eficiência para a separação das impurezas orgânicas.

Palavras-chave: Acetaminofem, qualidade, farmacopeia.

ABSTRACT

Analytical methods are needed to detect and identify impurities for quality control, through laboratory testing to ensure and assure your safety of each lot of raw material, and should be performed before the manufacturing process medicine, to lessen potential risks which may endanger the life of the consumer. Based on the studies, compared the techniques that has been used in the determination of acetaminofem and its contaminants, pointing out the main advantages and disadvantages of each technique. The work brings as a suggestion, the use of the method in the Infrared spectroscopy to the identification of the acetaminofem, and in the UV-Vis to quantification. While for the tests of impurities, it is necessary to adopt more expensive techniques, as the method of inductively coupled plasma atomic emission for the determination of elemental impurities, and the use of high efficiency liquid chromatography method for separation of organic impurities.

Keywords: Acetaminophen, quality, pharmacopoeia.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura do acetaminofem	9
Figura 2 – Síntese de acetaminofem com p-aminofenol.....	9
Figura 3 – Síntese de acetaminofem com nitrobenzeno.....	10

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Comparação dos métodos de identificação	13
Tabela 2 – Comparação do método de doseamento	16
Tabela 3 – Comparação dos métodos de faixa de fusão	17
Tabela 4 – Comparação dos métodos de resíduo de incineração	18
Tabela 5 – Comparação dos métodos de perda por dessecação e água	19
Tabela 6 – Comparação dos métodos de impurezas orgânicas	20
Tabela 7 – Comparação dos métodos de metais pesados	22
Tabela 8 – Comparação dos métodos de arsênio	23
Tabela 9 – Comparação dos métodos de cloretos e sulfatos.....	24
Tabela 10 – Sugestão de métodos de para controle de qualidade de acetaminofem	26

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	8
2. OBJETIVOS	10
2.1. Objetivo Geral	10
2.2. Objetivos Específicos.....	10
3. JUSTIFICATIVA.....	10
4. METODOLOGIA/PROCEDIMENTOS	12
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	13
5.1. Identificação.....	13
5.2. Doseamento	15
5.3. Ensaio de Pureza	17
5.3.1. Faixa de Fusão.....	17
5.3.2. Resíduo de Incineração	18
5.3.3. Perda por Dessecação	19
5.4. Impurezas Orgânicas.....	19
5.5. Impurezas Inorgânicas	22
5.5.1. Metais Pesados	22
5.5.2. Arsênio	22
5.5.3. Cloretos e Sulfatos	24
5.6. Metodologia Proposta	24
6. CONCLUSÃO	28
7. REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

De acordo com a Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), a definição para Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) é qualquer substância introduzida na formulação de uma forma farmacêutica que, quando administrada em um paciente, atua como princípio ativo. Estes IFAs devem obrigatoriamente passar por testes de controle de qualidade (BRASIL, RDC N° 166, 2017).

O Controle de Qualidade de acordo com a RDC N° 17 (2010), está relacionado com Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos (BPFM) referente a amostragem, especificações, ensaios, procedimentos de organização, documentação e procedimentos de liberação que asseguram que os ensaios necessários e relevantes sejam executados e que os materiais não sejam liberados para uso, nem os produtos liberados para venda ou fornecimento, até que a sua qualidade seja julgada satisfatória.

Ainda de acordo com a RDC N° 17 (2010), as metodologias analíticas empregadas no controle de qualidade das IFAs devem passar por revisões periódicas de suas especificações, para que, se necessário, sejam atualizadas conforme as novas edições da farmacopeia nacional ou outros compêndios oficiais, devendo ainda ser confirmado o cumprimento aos requisitos específicos para o uso pretendido, comprovando a sua adequabilidade por meio de ensaios experimentais.

Conforme regulamentação da Anvisa, somente as matérias-primas liberadas pelo departamento de controle de qualidade e que estejam dentro do prazo previsto para sua utilização podem ser empregadas na fabricação do medicamento (BRASIL, RDC N° 17, 2010).

Assim, um método analítico é necessário para detectar e identificar impurezas para o controle de qualidade, passando por ensaios laboratoriais para garantir e assegurar sua segurança de cada lote de insumo, e deve ser realizado antes do processo de fabricação do medicamento para diminuir potenciais riscos que possam colocar em perigo a vida do consumidor.

Os processos de fabricação de medicamentos são fiscalizados pela Anvisa, que tem como objetivo promover a proteção da saúde coletiva de uma população, por meio de controles sanitários da comercialização e das condições do processo produtivo de um medicamento. A qualidade deve ser redobrada na hora da produção dos medicamentos e produtos industrializados, bem como na obtenção da matéria-prima para diminuir e descartar erros na hora da produção, que possam colocar em risco a vida do consumidor (BRASIL, RDC N° 17, 2010).

A avaliação do controle de qualidade dos medicamentos representa uma etapa imprescindível para que haja a liberação do fármaco para o mercado em condições que

garantam a segurança, eficácia terapêutica e a qualidade do produto, durante todo o prazo de validade (BRASIL, RDC N° 17, 2010).

Comumente na indústria farmacêutica são utilizados os métodos e especificações contidos nos compêndios oficiais (farmacopeias) aprovados pela Anvisa que consiste em normas que possuem como objetivo verificar se o produto está em conformidade com as especificações farmacopeicas (BRASIL, RDC N° 37, 2009), porém para um mesmo IFA os métodos podem variar.

As indústrias farmacêuticas comumente produzem diversos medicamentos para o tratamento e controle de enfermidades, além de polivitamínicos e suplementos, desta forma, vários IFAs são processados para a obtenção destes produtos.

Um dos IFAs mais utilizados por estas indústrias, principalmente para a produção de medicamentos contra gripes e resfriados, é o acetaminofem, popularmente conhecido como paracetamol, um agente analgésico e antipirético amplamente utilizado para o alívio de febre, dores de cabeça e outras pequenas dores (BOSCH *et al.*, 2006, KAMBERI *et al.*, 2004, MASLARSKA E TENCHEVA, 2013).

O acetaminofem (Figura 1) possui fórmula molecular $C_8H_9NO_2$ com peso molecular de 151,16 g/mol. Em temperatura ambiente apresenta as seguintes características físico-químicas: pó cristalino branco, inodoro, com leve sabor amargo (FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª EDIÇÃO, 2010).

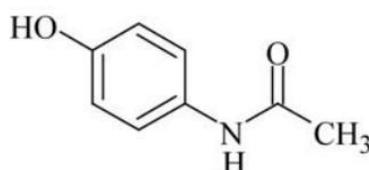


Figura 1 – Estrutura do acetaminofem.
Fonte: Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010).

A rota sintética para a obtenção do acetaminofem mais empregada é a acetilação da amina do p-aminofenol com anidrido acético (Figura 2). Através do nitrobenzeno utilizado como material de partida, é reduzido com zinco metálico, sendo o produto obtido tratado com ácido sulfúrico para gerar o p-aminofenol e em seguida, é realizada a acetilação, formando o acetaminofem (BAPTISTELLA *et al.*, 2003) (Figura 3).

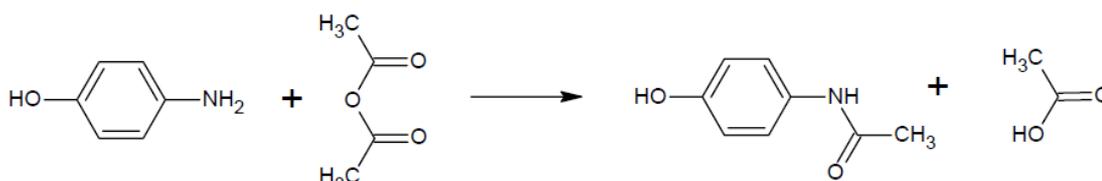


Figura 2 – Síntese de acetaminofem com p-aminofenol.
Fonte: Adaptado de Baptistella *et al.* (2003)

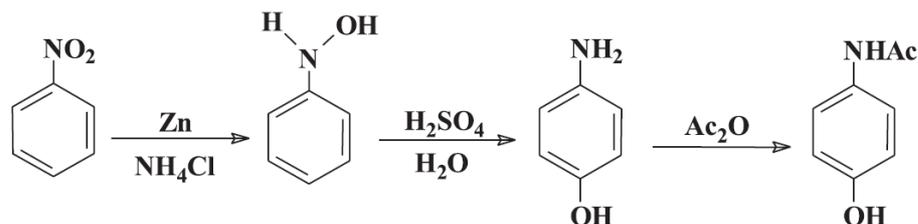


Figura 3 – Síntese de acetaminofem com nitrobenzeno.
 Fonte: Adaptado de Baptistella *et al.* (2003)

Para controle de qualidade deste IFA vários métodos têm sido utilizados, principalmente para determinação do teor e impurezas que podem estar relacionadas ao acetaminofem tanto na sua forma pura como na sua formulação. Alguns métodos são mais onerosos, como os métodos cromatográficos, entretanto fornecem, em teoria, resultados mais precisos quando comparados por exemplo a métodos titulométricos e espectrofotométricos na região do UV-Vis (BOSCH *et al.* 2006).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Compilar as análises empregadas no controle de qualidade do acetaminofem adotadas pelas principais farmacopeias, possibilitando uma consulta rápida e objetiva dos métodos que devem ser utilizados pelas indústrias farmacêuticas.

2.2. Objetivos Específicos

- Realizar levantamento bibliográfico das análises realizadas para a determinação da pureza do princípio ativo;
- Comparar as técnicas indicadas por diferentes fontes para determinar a existência de potenciais impurezas;
- Comparar as análises de identificação das impurezas existentes de acordo com as metodologias utilizadas;
- Avaliar a relação entre custo e benefício de cada técnica.

3. JUSTIFICATIVA

As impurezas orgânicas, que podem estar presentes no acetaminofem estão relacionadas ao processo de sua síntese e sua origem é influenciada, dentre outros fatores, pela escolha da rota sintética, qualidade dos materiais de partida, reagentes e solventes, das condições de reação e da purificação final.

O controle destas impurezas se faz necessário para garantir a segurança e eficácia do medicamento, a fim de minimizar os riscos à saúde, e tem sido objeto de grande atenção pelas agências reguladoras. Assim, um método analítico é necessário para detectar e identificar impurezas para o controle de qualidade.

Diante do que foi exposto, é de grande relevância o estudo e comparação dos diferentes métodos que já vem sendo utilizados no controle de qualidade do princípio ativo para que se possa propor uma metodologia menos onerosa e com a sensibilidade e robustez necessária para sua aplicação na indústria farmacêutica.

4. METODOLOGIA/PROCEDIMENTOS

Foi realizada uma revisão sistemática de literatura nas farmacopeias Brasileira 5ª edição (2010), USP 41 (2018), Britânica 2018 e Japonesa 7ª edição (2016), referente a estudos realizados para a determinação tanto quantitativa como qualitativa do acetaminofem e também de suas impurezas.

Com base nos resultados obtidos nestes trabalhos, foram comparados os métodos, que tem sido empregados no controle de qualidade do acetaminofem, com a finalidade de identificar uma metodologia menos onerosa e com a sensibilidade e robustez necessária para sua aplicação na indústria farmacêutica.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos compêndios apresentados acerca das técnicas que vem sendo utilizadas na determinação do acetaminofem e de seus contaminantes, foi possível realizar uma compilação dos principais resultados obtidos para identificação, doseamento, ensaios de pureza (faixa de fusão, resíduo de incineração e perda por dessecação) e presença de impurezas (orgânicas, metais pesados, cloretos e sulfetos, arsênio).

5.1. Identificação

Os ensaios de identificação possibilitam verificar se a identidade do material analisado está de acordo com o rótulo de sua embalagem. O não cumprimento dos requerimentos de um ensaio de identificação pode significar erro de rotulagem do material, e conforme preconizada na RDC N° 17, de 16 de abril de 2010, devem ser realizados ensaios de identificação nas amostras.

Embora específicos, os ensaios contidos nas farmacopeias não são, necessariamente, suficientes para estabelecer prova absoluta de identidade e por isso outros testes são necessários para a confirmação da identidade da substância (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Segundo a farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010), alguns ensaios de identificação devem ser considerados conclusivos como; infravermelho; espectrofotometria com absorção específica e cromatografia a líquido de alta eficiência acoplada a espectrofotometria. Esses ensaios devem ser realizados em complemento ao ensaio, quando aplicável.

Na Tabela 1, estão apresentadas a comparação dos métodos de identificação nas farmacopeias.

Tabela 1 – Comparação dos métodos de identificação.

Farmacopeias	Procedimento/Técnica	Especificação
USP (41, 2018)	A. Infravermelho 3800 - 650 cm ⁻¹	O espectro de absorção no infravermelho da amostra apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de padrão.
	B. Cromatografia Líquida (HPLC) Conforme método de doseamento.	O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da solução amostra corresponde àquele do pico principal da solução padrão.

	A. Ponto de fusão	168 – 172 °C.
Britânica (2018)	B. Infravermelho 4000 - 650 cm ⁻¹	O espectro de absorção no infravermelho da amostra apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de padrão.
	A. Infravermelho 4000 - 400 cm ⁻¹	O espectro de absorção no infravermelho da amostra apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de padrão.
Brasileira (5ª Ed., 2010)	B. Espectrofotômetro UV-Vis Comprimento de onda de 200 nm a 400 nm.	O espectro de absorção no ultravioleta da solução da amostra a exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução padrão.
	C. Método colorimétrico Em 10 mL de uma solução a 1% (p/v) da amostra, adicionar uma gota de solução de cloreto férrico.	Desenvolve-se coloração azul-violácea.
Japonesa (7ª Ed., 2016)	A. Infravermelho 3800 - 650 cm ⁻¹	O espectro de absorção no infravermelho da amostra apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de padrão.

Em todas as farmacopeias são utilizadas a técnica de infravermelho com leituras de padrão de referência e amostra efetuadas simultaneamente em condições idênticas e comparação posterior dos espectros. Este ensaio de identificação é capaz de diferenciar substâncias com diferenças estruturais.

A diferença entre os procedimentos dos compêndios está apenas na faixa de número de onda, porém não há impacto nesta variação visto que as principais bandas dos grupos funcionais fenol, amida e anel aromático característicos da estrutura de acetaminofem apresentam-se dentro da faixa do número de onda de 3800 a 650 cm⁻¹. Conforme Pavia *et al.* (2010), o grupo fenol apresenta bandas provenientes das ligações O-H e C-O em 3400 - 3200 cm⁻¹ e 1260 - 1000 cm⁻¹, respectivamente. O grupo amida apresenta bandas provenientes das ligações C=O e N-H em 1680 - 1630 cm⁻¹ e em aproximadamente 3300 cm⁻¹, respectivamente. E ainda o grupo anel aromático apresenta bandas provenientes da ligação de estiramento =C-H em 3050 - 3010 cm⁻¹, dobramento fora

do plano do anel para-dissubstituído em $800 - 850 \text{ cm}^{-1}$ e da ligação C=C em pares em 1600 cm^{-1} e 1475 cm^{-1} .

Além da técnica de infravermelho, as farmacopeias USP 41 (2018), Britânica 2018 e Brasileira 5ª edição (2010) realizam outros testes para a confirmação da identidade da matéria-prima como cromatografia líquida de alta eficiência, ponto de fusão e espectrofotômetro UV-VIS. Ainda a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010) realiza método complementar com ensaio de complexação.

Embora a cromatografia líquida de alta eficiência seja um método de separação, ela pode ser também utilizada como ferramenta de identificação. Neste caso, é realizada uma comparação do tempo de retenção da amostra com a do padrão de referência, devendo ser efetuadas nas mesmas condições. Assim, comumente a farmacopeia não descreve o tempo de retenção, uma vez que esta pode variar de acordo com o equipamento.

Da mesma forma, a identificação por espectrofotometria UV-Vis também é realizada através da comparação das absorbâncias entre o padrão de referência e a amostra, que devem estar dissolvidos em solvente apropriado, e serem efetuadas simultaneamente e em condições idênticas. Nesta técnica deve-se observar para que os solventes não absorvam na região espectral que está sendo utilizada e para que não cause interferência na análise. De acordo com O'Neil (2001), acetaminofem, em sua forma pura e utilizando etanol como solvente, apresenta um pico máximo de absorção em 250 nm.

O ensaio de complexação utilizado pela farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010) é para identificação de grupos funcionais, neste caso o grupo fenol que está presente na estrutura do acetaminofem. O grupo fenol reage com o íon Fe^{3+} desenvolvendo complexo colorido de azul-violácea. Deve se tomar cuidado com este ensaio, pois certos enóis também reagem positivamente.

Assim, dentre os métodos apresentados a espectroscopia no infravermelho é a técnica mais indicada para a identificação do acetaminofem, uma vez que é capaz de diferenciar substâncias com diferenças estruturais.

5.2. Doseamento

Análise de doseamento possibilita quantificar o princípio ativo em uma determinada substância e tem como objetivo verificar a pureza da matéria-prima. A comparação dos métodos de determinação de teor de acetaminofem nas farmacopeias estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2 – Comparação do método de doseamento.

Farmacopeias	Procedimento/Técnica	Especificação
USP (41, 2018)	Cromatografia líquida (HPLC)	
	Coluna: C8 100 mm x 4,6 mm x 3,5 µm	
	Temperatura da coluna: 35 °C	
	Fase móvel: Gradiente de solução fosfato de potássio monobásico/fosfato de sódio dibásico e metanol.	98,0 – 102,0%
	Detector UV comprimento de onda: 230 nm	
	Fluxo: 1 mL/min	
	Volume de injeção: 5 µL	
Britânica (2018)	Titulação oxido-redução	99,0 – 101,0%
	Titulante: sulfato de cério 0,1 M	
Brasileira (5ª Ed., 2010)	Espectrofotômetro UV-Vis	
	Comprimento de onda de 257 nm	98,0 – 101,0%
	Diluyente: Mistura de NaOH 0,1 M e água	
Japonesa (7ª Ed., 2016)	Espectrofotômetro UV-Vis	
	Comprimento de onda de 244 nm	Não menos que 98,0%
	Diluyente: água	

As farmacopeias Brasileira 5ª edição (2010) e Japonesa 7ª edição (2016) utilizam a técnica de espectrofotometria UV-Vis, que é uma técnica de grande confiabilidade para determinação de compostos orgânicos e relativamente barata em comparação com a cromatografia líquida de alta eficiência. O procedimento é semelhante ao método de identificação onde a amostra é dissolvida utilizando solvente apropriado, podendo ser empregado água. E também neste método deve-se tomar o cuidado no momento da escolha dos solventes para evitar que absorvam na região espectral que está sendo utilizada.

A farmacopeia Britânica 2018 determina o teor por técnica de titulação oxido-redução e o método envolve a hidrólise do paracetamol, catalisada por ácido, e a oxidação, promovida pela titulação com sulfato de cério (IV) usando ferroína como indicador, até obtenção da coloração amarelo esverdeada. A reação ocorre com o 4-aminofenol, um dos produtos formados durante esse processo. Como desvantagem desta técnica está a menor seletividade e baixa sensibilidade.

A farmacopeia USP 41 (2018) utiliza método de cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV. Esta técnica tem como vantagens a separação de componentes

antes de serem identificados pelo detector UV, evitando assim uma sobreposição espectral do analito de interesse. Porém geralmente apresenta desvantagens relacionadas ao tempo gasto no processo analítico, ao consumo de grandes quantidades de reagentes e solventes e à utilização de instrumentos sofisticados e de alto valor agregado com analista capacitado para operação.

Por isso, para a realização de análises de rotina para determinação de teor, o ideal são os métodos simples e relativamente mais baratos como o método espectrofotométrico UV-Vis.

5.3. Ensaio de Pureza

Vários ensaios como faixa de fusão, resíduo de incineração, perda por dessecação e água são realizados pelas farmacopeias como verificação da pureza das substâncias.

5.3.1. Faixa de Fusão

Temperatura ou ponto de fusão de uma substância é a temperatura mínima necessária para que o composto se encontre completamente fundido (FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª edição primeiro suplemento, 2016).

A obtenção do ponto de fusão serve para atestar a pureza da substância em análise, visto que caso a temperatura tenha uma variação do valor padrão definido para aquele elemento, então a substância pode não estar pura.

Conforme a Tabela 3, o procedimento adotado pelas farmacopeias Britânica 2018, Brasileira 5ª edição (2010) e Japonesa 7ª edição (2016) são iguais, com a utilização do método do bloco metálico aquecido com tubo capilar, já a farmacopeia USP 41 (2018) não realiza esta análise.

Tabela 3 – Comparação dos métodos de faixa de fusão.

Farmacopeias	Procedimento/Técnica	Especificação
USP (41, 2018)	Não realiza	-
Britânica (2018)	Método do bloco metálico aquecido	168 – 172 °C
Brasileira (5ª Ed., 2010)	Método do bloco metálico aquecido	168 – 172 °C

Japonesa (7ª Ed., 2016)	Método do bloco metálico aquecido	169 – 172 °C
--	-----------------------------------	--------------

Além da análise de ponto de fusão ser utilizado como ensaio de pureza, a farmacopeia Britânica também adotou como análise complementar de identificação do composto. Em relação ao valor de aceitação adotada pelas farmacopeias Britânica 2018, Brasileira 5ª edição (2010) e Japonesa 7ª edição (2016) não há diferença significativa entre eles e está próximo ao valor de 170 °C, conforme PubChem (2019).

5.3.2. Resíduo de Incineração

Resíduo de incineração determina o resíduo não volátil à incineração na presença de ácido sulfúrico. Em geral, o ensaio visa a determinar o teor de constituintes ou impurezas inorgânicas contidos em substâncias orgânicas (Farmacopeia Brasileira 5ª edição primeiro suplemento, 2016, Farmacopeia USP 41 edição, 2018, Farmacopeia Britânica 2018). A comparação deste ensaio está apresentada na Tabela 4.

Tabela 4 – Comparação dos métodos de resíduo de incineração.

Farmacopeias	Procedimento/Técnica	Especificação
USP (41, 2018)	Incineração na mufla a 600 °C	Não mais que 0,1%
Britânica (2018)	Incineração na mufla a 600 °C	Não mais que 0,1%
Brasileira (5ª Ed., 2010)	Incineração na mufla a 600 °C	Não mais que 0,1%
Japonesa (7ª Ed., 2016)	Incineração na mufla a 600 °C	Não mais que 0,1%

Neste ensaio, todas as farmacopeias utilizam o mesmo procedimento de incineração da amostra na mufla a 600 °C para determinação do resíduo e este deve atender a especificação de não mais que 0,1%.

5.3.3. Perda por Dessecação

O ensaio de perda por dessecação determina a quantidade de substância volátil de qualquer natureza eliminada submetida à dessecação. Já para determinar a água presente na amostra utiliza-se a técnica de Karl Fischer (FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª edição primeiro suplemento, 2016, FARMACOPEIA USP 41, 2018, FARMACOPEIA BRITÂNICA 2018).

Para este ensaio, todas as farmacopeias avaliadas utilizam o mesmo procedimento de dessecação da amostra na estufa a 105 °C para determinação da umidade, exceto a farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010) que determina o teor de água por meio de Karl Fischer. A especificação para maioria das farmacopeias deve ser de não mais que 0,5%, e apenas a farmacopeia Japonesa 7ª edição (2016) que possui a especificação mais restrita de 0,3%, conforme Tabela 5.

Tabela 5 – Comparação dos métodos de perda por dessecação e água.

Farmacopeias	Procedimento/Técnica	Especificação
USP (41, 2018)	Dessecação de 1,0 g de amostra na estufa a 105 °C até peso constante	Não mais que 0,5% de umidade.
Britânica (2018)	Dessecação de 1,0 g de amostra na estufa a 105 °C até peso constante	Não mais que 0,5% de umidade.
Brasileira (5ª Ed., 2010)	Karl Fischer	Não mais que 0,5% de água.
Japonesa (7ª Ed., 2016)	Dessecação de 0,5 g de amostra na estufa a 105 °C por 2 horas	Não mais que 0,3% de umidade.

5.4. Impurezas Orgânicas

Na Tabela 6 está apresentada a comparação dos ensaios para quantificação de potenciais impurezas conhecidas do acetaminofem, denominadas como impurezas específicas 4-aminofenol e p-cloroanilina e também as impurezas desconhecidas como as inespecíficas.

Tabela 6 – Comparação dos métodos de impurezas orgânicas.

Farmacopeias	Procedimento/Técnica	Especificação
USP (41, 2018)	Cromatografia líquida (HPLC) Coluna: C8 250 mm x 4,6 mm x 5 µm Temperatura da coluna: 40 °C Fase móvel: mistura de metanol, água, ácido acético glacial (50:950:1) e (500:500:1) Detector UV comprimento de onda: 254 nm Fluxo: 0,9 mL/min Volume de injeção: 5 µL	Impureza B: No máximo 0,05%; Impureza C: No máximo 0,05%; Impureza D: No máximo 0,05%; Impureza J (p-cloroacetanilida): No máximo 0,001%; Impurezas inespecíficas: No máximo 0,05%, para cada impureza; Impurezas totais: No máximo 0,1%.
	Cromatografia líquida (HPLC) Conforme método de doseamento Coluna: C8 100 mm x 4,6 mm x 3,5 µm Temperatura da coluna: 35 °C Fase móvel: Gradiente de solução fosfato de potássio monobásico/fosfato de sódio dibásico e metanol. Detector UV comprimento de onda: 230 nm Fluxo: 1 mL/min Volume de injeção: 5 µL	Impureza 4-aminofenol: No máximo 0,005%
Britânica (2018)	Cromatografia líquida (HPLC) Coluna de C18 100 mm x 2,1 mm x 2,7 µm Temperatura da coluna: 30 °C Fase móvel: Gradiente de solução fosfato de potássio monobásico/fosfato de sódio dibásico e metanol. Detector UV comprimento de onda: 254 nm Fluxo: 0,3 mL/min Volume de injeção: 5 µL	Impureza K (4-aminofenol): No máximo 0,005%; Impureza J (p-cloroacetanilida): No máximo 0,001%; Impurezas inespecíficas: No máximo 0,05%, para cada impureza; Impurezas totais: No máximo 0,2%.

Brasileira (5ª Ed., 2010)	Cromatografia de camada delgada (CCD)	p-cloroanilina: Qualquer mancha fluorescente azul produzida pela Solução amostra, com Rf entre 0,5 e 0,6, não é maior ou mais intensa que aquela produzida pela Solução padrão de p-cloroacetanilida. No máximo 0,001%.
	Placa de sílica-gel Fase móvel: mistura de clorofórmio, benzeno e acetona (65:10:25).	
	Método colorimétrico	4-aminofenol: A coloração azul desenvolvida na solução amostra não é mais intensa que a solução padrão, correspondendo a não mais 0,005%.
	Comparação da amostra com solução padrão no limite de 4-aminofenol (0,005% p/v)	
Japonesa (7ª Ed., 2016)	Cromatografia líquida (HPLC)	Impurezas totais: No máximo 0,5%
	Coluna de C18 150 mm x 4 mm x 5 µm	
	Temperatura da coluna: 40 °C	
	Fase móvel: mistura de tampão fosfato de potássio pH 4,7 e metanol (4:1)	
	Detector UV comprimento de onda de 225 nm	
	Fluxo: Ajustar até o tempo de retenção de 5 min para pico do paracetamol	
	Volume de injeção 10 µL	

A origem das impurezas orgânicas do acetaminofem são relacionadas pela escolha da rota sintética, qualidade dos materiais de partida, reagentes e solventes, das condições de reação e da purificação final, sendo as principais impurezas o 4-aminofenol e 4-cloroacetanilida (KAMBERI *et al.*, 2004).

A farmacopeia Brasileira 5ª edição (2010) é a única que controla as impurezas p-cloroanilina e 4-aminofenol pelos métodos de cromatografia de camada delgada (CCD) e colorimétrico, respectivamente. Estes métodos são relativamente simples, rápidos e de baixo custo, porém são ensaios semi-quantitativos e possibilitam apenas afirmar se a amostra passa ou não no teste pela comparação visual da intensidade da cor na amostra com o padrão preparada na concentração do limite especificado.

Já as farmacopeias USP 41 (2018), Britânica 2018 e Japonesa 7ª edição (2016) utilizam o método de cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV para quantificar as impurezas. Mesmo o alto custo deste método, esta técnica é ideal para o controle de impurezas orgânicas, pois os componentes são separados antes de serem identificados pelo detector UV, evitando assim uma sobreposição espectral do analito de interesse.

Os métodos utilizados pelas farmacopeias USP 41 (2018) e Britânica 2018 envolvem a comparação direta das respostas dos picos obtidos com os respectivos padrões de substâncias químicas de referência (SQR) das impurezas específicas. Para o controle das impurezas, a farmacopeia USP 41 (2018) utiliza dois sistemas cromatográficos diferentes, o que pode acabar elevando o custo e o tempo da análise, enquanto que o método da Farmacopeia Britânica 2018 é capaz de identificar e quantificar todas as impurezas de interesse em um único sistema cromatográfico.

O método da farmacopeia Japonesa 7ª edição (2016) não verifica as impurezas individualmente, sendo que o controle é realizado apenas das impurezas totais, cujo limite máximo é de 0,5%. Para isso, o método utiliza apenas um sistema cromatográfico sem a utilização de padrão de substâncias químicas de referência (SQR).

5.5. Impurezas Inorgânicas

Vários ensaios como metais pesados, arsênio, cloretos e sulfatos são realizados pelas farmacopeias como verificação das impurezas inorgânicas.

5.5.1. Metais Pesados

Análise de metais pesados é um ensaio limite em que consiste na formação de partículas sólidas dos sulfetos de metais pesados, em suspensão, e posterior comparação visual da intensidade da cor nas preparações amostra e padrão em tubo de Nessler (FARMACOPEIA BRASILEIRA 5ª edição, 2010).

Tabela 7 – Comparação dos métodos de metais pesados.

Farmacopeias	Procedimento/Técnica	Especificação
USP (41, 2018)	Método colorimétrico	Não mais que 10 ppm
Britânica (2018)	Método colorimétrico	Não mais que 20 ppm
Brasileira (5ª Ed., 2010)	Método colorimétrico	Não mais que 20 ppm
Japonesa (7ª Ed., 2016)	Método colorimétrico	Não mais que 10 ppm

Em todas as farmacopeias o método de preparação da amostra passa por ignição do composto para posterior diluição com solvente adequado e comparação visual da intensidade da cor entre amostra e padrão. O ensaio é semi-quantitativo e possibilita inferir se a amostra passa ou não no teste, representando o somatório da concentração dos elementos contaminantes na amostra. As farmacopeias Britânica 2018 e Brasileira 5ª edição (2010) possuem a especificação de 20 ppm, já as farmacopeias USP 41 (2018) e Japonesa 7ª edição (2016) a especificação é mais restrita de 10 ppm.

Este método tem como desvantagem o preparo da amostra que requer ignição a temperatura de até 600 °C, podendo levar à perda de analitos voláteis como o elemento tóxico mercúrio e também uso de reagentes altamente tóxicos. E ainda, o ensaio não apresenta sensibilidade e especificidade pois não é capacitado para quantificar os baixos níveis de metais pesados e não tem capacidade de distinguir e quantificar metais pesados específicos de interesse, como cromo e os metais catalisadores.

Os métodos tradicionais de testes de metais pesados vem sendo substituídos por método mais modernos usando a emissão atômica de plasma acoplado indutivamente (ICP) que é análise multielementar, possibilitando quantificar vários elementos contaminantes da amostra. O preparo da amostra pode ser realizada por digestão com microondas por via fechado (alta temperatura e pressão), eliminando quaisquer problemas de perda de elementos voláteis, como o mercúrio.

5.5.2. Arsênio

O método de arsênio está baseado na reação entre a arsina (AsH_3) liberada e dietilditiocarbamato de prata que formam complexo vermelho e posterior comparação visual da intensidade da cor nas preparações amostra e padrão (Farmacopeia Brasileira 5ª edição, 2010).

Conforme a Tabela 8, apenas a farmacopeia Japonesa 7ª edição (2016) realiza o controle de não mais que 2 ppm de arsênio.

Tabela 8 – Comparação dos métodos de arsênio.

Farmacopeias	Procedimento/Técnica	Especificação
USP (41, 2018)	Não realiza	-
Britânica (2018)	Não realiza	-

Brasileira (5ª Ed., 2010)	Não realiza	-
Japonesa (7ª Ed., 2016)	Método colorimétrico	Não mais que 2 ppm

5.5.3. Cloretos e Sulfatos

Análise de cloretos é ensaio limite em que consiste na formação de precipitado de cloreto de prata e posterior comparação visual da amostra com o padrão preparada na concentração do limite especificado. O ensaio de sulfatos é o mesmo princípio, com formação de precipitado de sulfato de bário.

Apenas as farmacopeias Brasileira 5ª edição (2010) e Japonesa 7ª edição (2016) que realizam estes ensaios, conforme a Tabela 9. Entre as duas farmacopeias a especificação de cloretos são iguais e apresentam uma pequena diferença na especificação de sulfatos.

Tabela 9 – Comparação dos métodos de cloretos e sulfatos.

Farmacopeias	Procedimento/Técnica	Especificação
USP (41, 2018)	Não realiza	-
Britânica (2018)	Não realiza	-
Brasileira (5ª Ed., 2010)	Método colorimétrico	Cloreto: No Máximo 0,014% Sulfato: No Máximo 0,02%
Japonesa (7ª Ed., 2016)	Método colorimétrico	Cloreto: No Máximo 0,014% Sulfato: No Máximo 0,019%

5.6. Metodologia Proposta

Para a escolha da metodologia para o controle de qualidade do insumo, é necessário que se realize uma avaliação entre qualidade, custo e benefício de cada técnica, sem que se perca a qualidade e confiabilidade dos resultados. A consideração deve ser realizada pela complexidade do procedimento, reprodutibilidade e sensibilidade do método.

Para a identificação do composto acetaminofem, a sugestão é realizar ensaio utilizando o método por infravermelho, visto que esta técnica é considerada conclusiva pela farmacopeia Brasileira.

Para análise de doseamento, como a espectrofotometria na região UV-Vis é uma técnica relativamente barata e de grande confiabilidade pois são bastante sensíveis e confiáveis para determinação de compostos orgânicos, esta pode ser utilizada para determinação de acetaminofem.

Entretanto, para análise de impurezas orgânicas que contêm vários componentes, a técnica de espectrofotometria na região UV-Vis apresenta desvantagem pelo fato de que a maioria das substâncias absorvem fortemente em regiões próximas do espectro ultravioleta. Neste caso, pode ocorrer uma sobreposição espectral ocasionando resultados que podem mascarar a determinação do acetaminofem e quantificação de impurezas orgânicas e por isso requer o uso de técnicas de separação como cromatografia líquida de alta eficiência.

Para análise de impurezas orgânicas, o ideal é que seja um método capaz de identificar todas as impurezas específicas e inespecíficas em um único método, como é o ensaio utilizada pela farmacopeia Britânica 2018. Assim será gasto menos reagentes para o preparo das soluções analíticas e fase móvel, além de otimizar o tempo de análise.

Os ensaios de pureza (faixa de fusão, resíduo de incineração, perda por dessecação e água) serão mantidos as mesmas análises já realizadas pelas farmacopeias, visto que não há outros ensaios equivalentes com os mesmos princípios das análises.

Para o controle das impurezas inorgânicas será proposto o ensaio por método de emissão atômica de plasma acoplado indutivamente (ICP) que é análise multielementar, possibilitando quantificar vários elementos contaminantes na amostra em uma única análise, ainda será possível substituir os ensaios de metais pesados e arsênio, e assim otimizar o tempo de análise. Para os medicamentos administrados via oral, o ICH (2014) recomenda o controle das impurezas elementares de classe 1 (cádmio, chumbo, arsênio e mercúrio) e classe 2A (cobalto, níquel e vanádio). Estas impurezas elementares podem ser controladas pelos limites previamente estabelecidos de acordo com o capítulo geral <232> *Elemental Impurities – Limits* da farmacopeia USP.

Desta forma, como sugestão de uma metodologia menos onerosa sem perder em qualidade e confiabilidade dos resultados e que possa ser aplicada no controle de qualidade do insumo farmacêutico estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 – Sugestão de métodos de para controle de qualidade de acetaminofem.

Ensaio	Procedimento/Técnica	Especificação
Identificação (USP 41, 2018)	Infravermelho 3800 - 650 cm ⁻¹	O espectro de absorção no infravermelho da amostra apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de padrão.
Doseamento (Brasileira 5ª Ed., 2010)	Espectrofotômetro UV-Vis Comprimento de onda de 257 nm Diluyente: Mistura de NaOH 0,1 M e água	98,0 – 101,0%
Faixa de fusão (Brasileira 5ª Ed., 2010, Britânica, 2018)	Método do bloco metálico aquecido	168 – 172 °C
Resíduo de incineração (USP 41, 2018, Brasileira 5ª Ed., 2010, Japonesa, 7ª Ed., 2016)	Incineração na Mufla a 600 °C	Não mais que 0,1%
Perda por dessecação (USP 41, 2018, Britânica, 2018)	Dessecação de 1,0 g de amostra na estufa a 105 °C até peso constante	Não mais que 0,5% de umidade.
Impurezas orgânicas (Britânica, 2018)	Cromatografia líquida (HPLC) Coluna de C18 100 mm x 2,1 mm x 2,7 µm Temperatura da coluna: 30 °C Fase móvel: Gradiente de solução fosfato de potássio monobásico/fosfato de sódio dibásico e metanol. Detector UV comprimento de onda: 254 nm Fluxo: 0,3 mL/min Volume de injeção: 5 µL	Impureza K (4-aminofenol): No máximo 0,005%; Impureza J (p-cloroacetanilida): No máximo 0,001%; Impurezas inespecíficas: No máximo 0,05%, para cada impureza; Impurezas totais: No máximo 0,2%.

Impurezas elementares

ICP (desenvolvimento local)

Cádmio: 0,5 µg/g;**Chumbo:** 0,5 µg/g;**Arsênio:** 1,5 µg/g;**Mercúrio:** 3 µg/g;**Cobalto:** 5 µg/g;**Níquel:** 20 µg/g;**Vanádio:** 10 µg/g.(USP 41, 2018)

6. CONCLUSÃO

A avaliação da qualidade dos medicamentos na indústria farmacêutica é indispensável, e pode ser considerada como um conjunto de ações que tem como objetivo garantir que o produto esteja com características satisfatórias para o atendimento às necessidades dos pacientes.

No presente estudo, foi possível realizar uma compilação das metodologias empregadas pelas farmacopeias Britânica 2018, Japonesa 7ª edição (2016), Brasileira 5ª edição (2010) e USP 41 (2018), no controle de qualidade de medicamentos envolvendo o acetaminofem, bem como realizar uma discussão das vantagens e desvantagens de cada método, sendo sugerido o método mais adequado para cada caso.

Embora os métodos propostos sejam os mais adequados para cada análise, uma das dificuldades encontradas para implementação na indústria farmacêutica é a recomendação da Anvisa de não combinar métodos de diferentes farmacopeias.

7. REFERÊNCIAS

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Boletins Eletrônicos, Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/>>. Acesso em: 01 out. 2018.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Farmacopeia Brasileira, 5ª edição, Brasília, 2010.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Farmacopeia Brasileira, 5ª edição, Primeiro Suplemento, Brasília, 2016.

BAPTISTELLA, L. H. B.; GIACOMINI R. A.; IMAMURA, P. M.; Síntese dos analgésicos paracetamol e fenacetina e do adoçante dulcina: um projeto para química orgânica experimental. Química Nova, v.26, n. 2, p.284-286, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada, RDC nº 17, de 16 de abril de 2010, dispõe sobre Boas Práticas de fabricação de Medicamentos.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada, RDC nº 37, de 6 de julho de 2009, dispõe sobre trata da admissibilidade das Farmacopeias estrangeiras.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada, RDC nº 166, de 24 de julho de 2017, dispõe sobre sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências.

BRISH PHARMACOPOEIA, 2018.

BOSCH M. E.; SÁNCHEZ A. J. R.; ROJAS, F. S.; OJEDA C. B.; Determination of paracetamol: historical evolution. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v.42 p.291-321, 2006.

ICH. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. Q3D Guideline for elemental impurities, 4 version, 16 December 2014.

KAMBERI M.; RILEY, C. M.; SHARON, X. M.; HUANG, C. C.; A validated, sensitive HPLC method for the determination Of trace impurities in acetaminophen drug substance. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v.34, p.123-128, 2004.

MASLARSKA, V.; TENCHEVA, J.; Simultaneous determination and validation of paracetamol and codeine phosphate in pharmaceutical preparation by RP-HPLC. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. v.5, p.417-419, 2013.

O'NEIL, M. J. (Ed.). The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 13 th ed. Whitehouse Station: Merck & CO, 2001.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R.: Introdução à espectroscopia tradução da 4ª edição norte-americana, Cengage Learning, 2010.

PUBCHEM. Boletins Eletrônicos, Disponível em:
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetaminophen#section=Melting-Point>>.
Acesso em: 18 mai. 2019.

THE JAPANESE PHARMACOPOEIA, Seventh Edition, 2016.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, 41 Edition, 2018.