



B1

ISSN: 2595-1661

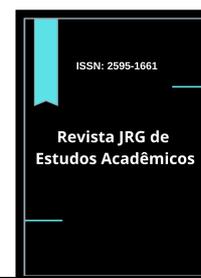
ARTIGO DE REVISÃO

Listas de conteúdos disponíveis em [Portal de Periódicos CAPES](https://portal.periodicos.capes.gov.br)

Revista JRG de Estudos Acadêmicos

Página da revista:

<https://revistajrg.com/index.php/jrg>



Comparativo das técnicas cromatográficas para insumo ativo farmacêutico

Comparative analysis of chromatographic techniques for active pharmaceutical ingredients

 DOI: 10.55892/jrg.v7i14.1264
 ARK: 57118/JRG.v7i14.1264

Recebido: 23/04/2024 | Aceito: 18/06/2024 | Publicado on-line: 20/06/2024

Bruna de Oliveira Machado do Nascimento¹

 <https://orcid.org/0009-0007-0427-6601>

 <https://lattes.cnpq.br/3184363102484775>

Centro Universitário União das Américas Descomplica, Uniamérica, Polo Biopark, PR, Brasil.

E-mail: brunamachado840@gmail.com

Kelly Cristina Massarolo²

 <https://orcid.org/0000-0002-6834-1771>

 <http://lattes.cnpq.br/6589826002452203>

Faculdade Biopark, PR, Brasil

E-mail: kelly.massarolo@bpkedu.com.br

Letycia Lopes Ricardo³

 <https://orcid.org/0000-0002-5862-7768>

 <http://lattes.cnpq.br/5938193273335937>

Faculdade Biopark, PR, Brasil.

E-mail: letycia.ricardo@bioparkedu.com.br



Resumo

A indústria farmacêutica é um setor altamente regulamentado, onde a qualidade, a segurança e a eficácia dos medicamentos são prioridades fundamentais. Para atender a essas rigorosas normas regulatórias, a indústria recorre a técnicas analíticas avançadas, como a cromatografia. Assim, o trabalho visa realizar um levantamento bibliográfico das técnicas cromatográficas empregadas na análise de insumos farmacêuticos ativos sólidos. Para isso, inicialmente foi realizada uma pesquisa em uma indústria farmacêutica do Oeste do Paraná para identificar os ativos sólidos mais analisados por técnicas cromatográficas nos últimos sete meses de julho/2023 a janeiro/2024. Os principais ativos sólidos identificados foram: albendazol, atenolol, fosfato sódico de prednisolona, furosemida e cloridrato de metformina. Com base nas diretrizes estabelecidas por farmacopeias oficiais, como a farmacopeia brasileira, britânica e americana. As principais técnicas cromatográficas utilizadas incluem a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Cromatografia Gasosa (CG) e a

¹ Graduação em andamento pela Faculdade União das Américas, UNIAMERICA, Brasil.

² Possui graduação em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná (2008), mestrado e doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos pela Universidade Federal do Rio Grande - FURG (2016 e 2020), com período sanduíche no Food Innovation Center na Universidade de Nebraska-Lincoln (EUA). Pós doutorado em Tecnologia de Alimentos pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná - UTFPR (2023).

³ Graduação em Química Licenciatura (2006-2010), Mestrado e Doutorado (2011-2017) em Química Orgânica com ênfase em Produtos Naturais pela Universidade Estadual de Maringá. Pós-Doutorado em Agronomia (2017-2018) na área de controle químico de Plantas Daninhas, também pela Universidade Estadual de Maringá. Especialista em Inovação e Tendências da Educação (2021) pelo Instituto Ânima em parceria com a MIF Academy da Soprano (Finlândia), com imersão em Metodologias Ativas.

Cromatografia de Camada Delgada (CCD). A revisão bibliográfica abordou as análises que utilizam as técnicas cromatográficas atualmente para cada um desses ativos, bem como as técnicas que foram substituídas no decorrer do tempo. A pesquisa foi conduzida nas bases de dados das farmacopeias para obter informações detalhadas sobre os métodos de avaliação desses ativos, garantindo a segurança e eficácia dos medicamentos. Para cada ativo avaliado foi possível verificar que a técnica de CLAE é utilizada para todos os ativos. Desta forma, a técnica CLAE garante a conformidade com os rigorosos padrões regulatórios e contribui para a segurança e eficácia dos medicamentos, já a aplicabilidade das técnicas de CCD e CG é de acordo com os compêndios oficiais e as suas características físico-químicas.

Palavras-chave: Cromatografia. Insumo farmacêutico ativo sólido. Farmacopeia. Indústria farmacêutica. Controle de qualidade.

Abstract

The pharmaceutical industry is a highly regulated sector where quality, safety, and efficacy of medications are fundamental priorities. To meet these stringent regulatory standards, the industry employs advanced analytical techniques such as chromatography. This study aims to conduct a bibliographic survey of chromatographic techniques used in the analysis of solid active pharmaceutical ingredients (APIs). Initially, a survey was conducted in a pharmaceutical company in western Paraná to identify the most analyzed solid APIs by chromatographic techniques over the last seven months, from July 2023 to January 2024. The main solid APIs identified were albendazole, atenolol, prednisolone sodium phosphate, furosemide, and metformin hydrochloride. Based on the guidelines established by official pharmacopeias, such as the Brazilian, British, and American pharmacopeias, the main chromatographic techniques used include High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), Gas Chromatography (GC), and Thin-Layer Chromatography (TLC). The bibliographic review covered the analyses currently using chromatographic techniques for each of these APIs, as well as the techniques that have been replaced over time. The research was conducted using pharmacopeial databases to obtain detailed information on the evaluation methods of these APIs, ensuring the safety and efficacy of the medications. For each evaluated API, it was found that HPLC is used for all APIs. Thus, the HPLC technique ensures compliance with rigorous regulatory standards and contributes to the safety and efficacy of medications, while the applicability of TLC and GC techniques depends on the official compendia and their physicochemical characteristics.

Keywords: Chromatography. Solid active pharmaceutical ingredient. Pharmacopeia. Pharmaceutical industry. Quality control.

1. Introdução

A indústria farmacêutica desempenha um papel crucial na sociedade, fornecendo medicamentos e produtos de saúde que têm um impacto direto na vida das pessoas. Nesse contexto, a qualidade dos produtos farmacêuticos é uma preocupação primordial, e o controle de qualidade desempenha um papel essencial para garantir a eficácia, segurança e conformidade desses produtos (ROCHA, 2014).

O controle de qualidade na indústria farmacêutica é rigorosamente regulamentado por diversos órgãos internacionais e nacionais, que estabelecem normas e diretrizes para garantir a segurança, eficácia e qualidade dos

medicamentos. No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é a principal autoridade responsável pela regulamentação do setor farmacêutico. A ANVISA define normas para a fabricação, comercialização e distribuição de medicamentos, além de realizar inspeções em indústrias farmacêuticas para assegurar a conformidade com as boas práticas de fabricação (BPF). A agência também avalia e aprova novos medicamentos, garantindo que os produtos oferecidos à população sejam seguros e eficazes (ANVISA, 2022).

Para garantir a conformidade com as regulamentações, a indústria farmacêutica deve realizar uma série de análises obrigatórias. Estas incluem testes físico-químicos, microbiológicos e de estabilidade, entre outros. Desta forma, cada técnica possui características específicas que a tornam adequada para diferentes tipos de análise (ANVISA, 2022). A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma das técnicas mais utilizadas na indústria farmacêutica devido à sua alta precisão, sensibilidade e versatilidade. Ela é empregada para separar, identificar e quantificar componentes em uma mistura. Essa técnica é especialmente útil para a análise de compostos não voláteis e termicamente instáveis, sendo amplamente utilizada em testes de pureza, determinação de potência e análise de produtos de degradação e impurezas (GOULART, 2012).

A cromatografia gasosa (CG) é utilizada para a análise de compostos voláteis. É frequentemente aplicada na determinação de solventes residuais, análise de óleos essenciais, e identificação de contaminantes voláteis em matérias-primas e produtos acabados. CG, em combinação com detectores como o detector de ionização de chama (FID) e o detector de captura de elétrons (ECD), oferece alta sensibilidade e especificidade (GOULART, 2012).

A cromatografia de camada delgada (CCD) é uma técnica simples e rápida utilizada para a separação e identificação preliminar de compostos em uma mistura. Embora menos sofisticada que CLAE e CG é útil para triagem rápida e análise qualitativa de componentes em matérias-primas e produtos acabados (GOULART, 2012).

Este trabalho explorará as técnicas de cromatografia que desempenham um papel fundamental na indústria farmacêutica, e a sua conformidade com os compêndios oficiais. Através dessa análise, foi possível compreender como a cromatografia se tornou um alicerce essencial para garantir que os medicamentos atendam aos mais altos padrões de qualidade e segurança, beneficiando a saúde e o bem-estar dos pacientes em todo o mundo.

2. Metodologia

Este trabalho foi desenvolvido através de uma revisão bibliográfica sistemática, visando compilar e analisar informações relevantes sobre os fundamentos da cromatografia e seu papel no controle de qualidade na indústria farmacêutica. O estudo envolveu a pesquisa de artigos científicos, legislação, livros e compêndios oficiais das farmacopeias brasileira, britânica e americana.

Para a coleta de dados, foram utilizadas as seguintes bases de dados eletrônicas: Google acadêmico, SciELO, Portal da CAPS, Sience.gov, PubMed e MEDLINE, assim como livros que trazem os fundamentos da cromatografia e compêndios oficiais das farmacopeias brasileira, britânica e americana, com as seguintes palavras-chave: indústria farmacêutica, farmacopeia, controle de qualidade, insumo ativo, boas práticas de fabricação, Cromatografia em Camada Delgada, Cromatografia líquida, Cromatografia Gasosa, os princípios ativos albendazol,

atenolol, fosfato sódico de prednisolona, furosemida, cloridrato de metformina, formulação farmacêutica sólida.

Foram selecionados na revisão artigos publicados nos últimos 10 anos (2013-2023) que abordam a aplicação de técnicas cromatográficas no controle de qualidade na indústria farmacêutica, capítulos de livro que apresentem fundamentos teóricos e práticos da cromatografia e base de dados das farmacopeias brasileira, britânica e americana que detalhem metodologias analíticas cromatográficas.

E para a realização deste estudo foi realizada uma pesquisa em uma indústria farmacêutica do Oeste do Paraná, no setor de controle de qualidade da matéria prima os ativos sólidos mais analisados nos últimos sete meses, sendo de julho/2023 a janeiro/2024 os ativos foram: albendazol, atenolol, fosfato sódico de prednisolona, furosemida e cloridrato de metformina. As informações sobre metodologias analíticas cromatográficas foram extraídas dos compêndios oficiais, cada compêndio foi analisado para identificar as diretrizes e padrões recomendados para garantir a qualidade da matéria-prima e do produto final nas indústrias farmacêuticas. As metodologias apresentadas nos compêndios foram comparadas e discutidas quanto à sua aplicabilidade e eficiência.

3. Resultados e Discussão

Após a análise comparativa das metodologias de albendazol, atenolol, fosfato sódico de prednisolona, furosemida e cloridrato de metformina e das farmacopeias brasileira, britânica e americana, observa-se que algumas análises foram incluídas e outras retiradas de acordo com cada compêndio atualizado, como demonstrado no Quadro 1.

Quadro 1 – Comparativo dos ativos sólidos com cada farmacopeia

Insumo Farmacêutico Ativo - sólido	Farmacopeia BR	Farmacopeia BP	Farmacopeia USP	CCD	CG	CLAE
Albendazol	X		X	X		X
Atenolol	X	X	X	X		X
Fosfato sódico de prednisolona	X		X	X	X	X
Furosemida	X	X	X	X		X
Cloridrato de metformina	X	X	X		X	X

Fonte: autoria própria, 2024.

Com base na acessibilidade de cada compêndio, observa-se que não houve nenhuma alteração no insumo farmacêutico ativo Albendazol, conforme descrito nas farmacopeias brasileira e americana. As técnicas aplicadas para sua análise são Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

(CLAE). Para a técnica de CLAE, determine-se o teor do Albendazol. A farmacopeia brasileira especifica o preparo da fase móvel como sendo uma solução de 0,5 g de fosfato de amônio monobásico em 1000 mL de uma mistura de água e álcool metílico (4:6). O cromatógrafo utilizado é equipado com um detector ultravioleta ajustado para 254 nm e uma coluna de 250 mm, embalada com sílica quimicamente ligada a grupos octadecilsilano (ANVISA, 2019). A principal diferença entre as duas técnicas reside na sua análise específica: o CCD é qualitativo e, portanto, permite a identificação dos componentes da mistura, enquanto o CLAE é quantitativo e utilizado para determinar a concentração do ativo.

A cromatografia é uma técnica analítica que permite a separação de misturas complexas de substâncias químicas. Ela é baseada na interação entre as substâncias da mistura e duas fases distintas: uma fase estacionária e uma fase móvel. A fase estacionária é geralmente um sólido ou um líquido, enquanto a fase móvel é um gás ou um líquido (VON MÜHLEN; LANÇAS, 2004).

De acordo com Costa e Silva (2016), a cromatografia de camada delgada (CCD) é uma técnica de separação de misturas que utiliza duas fases: a fase estacionária, que é fixa, e a fase móvel, que é líquida. A separação dos componentes da mistura ocorre pela diferença de interação entre esses componentes com as duas fases. Assim, a CCD é uma técnica de separação de misturas que utiliza uma fase estacionária sólida, como a gel de sílica, e uma fase móvel líquida, como um solvente ou uma mistura de solventes. A mistura a ser separada é aplicada na fase estacionária, e a fase móvel é então movimentada ao longo da placa, levando os componentes da mistura a se moverem com velocidades diferentes, de acordo com suas interações com as duas fases.

A CCD representa uma das técnicas cromatográficas mais acessíveis e economicamente viáveis, particularmente quando se busca eficiência na separação e identificação visual rápida de componentes. Esta técnica demonstrou um valor extraordinário na análise de substâncias tanto orgânicas quanto inorgânicas, bem como no acompanhamento de respostas em sínteses e processos de purificação. Além da cromatografia de camada delgada, existem mais duas técnicas de alta eficiência, a cromatografia líquida e gasosa (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2017).

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), apresenta um modelo do equipamento CLAE que é uma técnica analítica que utiliza uma fase móvel líquida para separar componentes de uma mistura. A fase móvel flui através de uma coluna empacotada com uma fase estacionária sólida. A cromatografia líquida é uma técnica versátil que pode ser usada para separar uma ampla variedade de compostos, incluindo orgânicos, inorgânicos e biológicos. É uma técnica muito precisa e fundamental para garantir a qualidade do fármaco, pode ser usada para medir a quantidade de cada componente em uma mistura, desta forma, para amostra voláteis é utilizado a técnica por CG (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2017).

A cromatografia gasosa (CG) é uma técnica analítica que utiliza um gás inerte como fase móvel para separar componentes de uma mistura. A técnica de desenvolvimento usada é a de eluição e que pode ser empregada na análise de substâncias voláteis e estáveis termicamente. Dessa forma, uma corrente de gás passa continuamente pela coluna e, quando a amostra vaporizada é introduzida rapidamente nessa corrente de gás, ela é arrastada através da coluna. As substâncias presentes na amostra, depois de separadas, chegam ao detector, que gera um sinal para um sistema de registro e tratamento dos dados (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2017).

Diante disso, com base na farmacopeia brasileira do ano de 2010, o Atenolol passa a realizar análise de teor que é pela técnica de CLAE, desta forma a farmacopeia traz que para preparar a fase móvel deve-se dissolver 1,1 g de heptanossulfonato de sódio e 0,71 g de fosfato de sódio dibásico anidro em 700 mL de água. Se necessário, ajusta-se o pH para 3,0 com ácido fosfórico SR. Na sequência deve-se adicionar 300 mL de álcool metílico e 2 mL de dibutilamina e homogeneizar. O cromatógrafo utilizado deve ser provido de detector ultravioleta a 226 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada à grupo octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente. Além dessa metodologia, é realizada a técnica de CCD, onde através de uma mistura é possível qualificar os componentes. Esse ativo também consta em outras farmacopeias como a britânica e americana, porém apenas com a técnica de CLAE (ANVISA, 2010).

De acordo com a farmacopeia brasileira de 2010, foi incluído análise de doseamento para o ativo Atenolol, onde é realizada utilizando a técnica de CLAE. O preparo da fase móvel e as configurações operacionais previstas são os seguintes: dissolver 1,1 g de heptanossulfonato de sódio e 0,71 g de fosfato de sódio dibásico anidro em 700 mL de água. Caso necessário ajusta-se o pH para 3,0 com ácido fosfórico SR. Em seguida, adiciona-se 300 mL de álcool metílico e 2 mL de dibutilamina, homogeneizando a mistura. O cromatógrafo deve estar equipado com um detector ultravioleta ajustado para 226 nm, utilizando uma coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, embalada com sílica quimicamente ligada a grupos octadecilsilano (5 µm), mantida à temperatura ambiente. Além da CLAE, a farmacopeia brasileira também menciona a utilização da técnica de CCD para o Atenolol sendo qualitativa para identificação dos compostos (ANVISA, 2010).

O fosfato sódico de prednisolona não apresentou nenhuma alteração nas análises atualmente aplicadas, conforme a acessibilidade dos compêndios, estando presente nas farmacopeias britânica e americana. As técnicas utilizadas incluem CLAE, CCD e CG. Na técnica de CLAE, são analisadas substâncias relacionadas para quantificar as impurezas do ativo. A farmacopeia americana descreve os parâmetros a serem ajustados, como o detector UV a 254 nm e a coluna de 4,6 mm x 25 cm. Outra técnica aplicada é a CCD, que é qualitativa e compara a mancha principal da amostra com o padrão. Além dessas, a farmacopeia britânica descreve a análise de solventes residuais, quantificados por CG. Os parâmetros específicos incluem uma coluna de 30m x 0,53 mm, utilizando um detector de ionização por chama (FID), com gás de arraste hélio e temperatura do detector a 250°C (USP, 2021). Diante disso, todas essas técnicas são aplicadas para garantir a qualidade do medicamento.

Para o ativo Furosemida, a Farmacopeia Americana de 2014 incluiu análise de substâncias relacionadas, que é realizada pela técnica CLAE. Esta técnica é utilizada para quantificar as impurezas presentes no medicamento. As configurações de ajuste para o CLAE são: coluna de 4,6 mm x 250 mm, detector UV/Vis ajustado para 238 nm. A Furosemida está presente nas três farmacopeias: a americana, que utiliza a técnica de CLAE; a britânica, que apresenta tanto a técnica de CLAE quanto a de CCD; e a brasileira, que descreve exclusivamente a técnica de CLAE (USP, 2021).

Contudo, para o ativo de Cloridrato de Metformina em 2021, a técnica de CCD foi retirada pois se referem a identificação secundária da monografia britânica, onde a indústria farmacêutica é respaldada pela legislação RDC nº 166/2017, que dispõe sobre a validação de métodos analíticos e estabelece que todos os métodos analíticos utilizados devem ser validados para garantir sua confiabilidade, após a validação do

método, pode-se realizar adequação na metodologia, mas sempre visando a qualidade e confiabilidade do medicamento.

Diante do exposto, é possível concluir que a técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é amplamente utilizada para todos os ativos devido à sua robustez e alta confiabilidade. As demais técnicas são empregadas conforme as especificações de cada compêndio, levando em consideração as características físico-químicas dos compostos analisados.

4. Conclusão

As técnicas cromatográficas têm desempenhado um papel fundamental no avanço da ciência e da tecnologia em diversas áreas, desde a análise de compostos em alimentos e medicamentos até a pesquisa em biologia e química. Por tanto este trabalho realizou um levantamento bibliográfico das técnicas cromatográficas empregadas na análise de insumos farmacêuticos ativo sólidos. Estas técnicas oferecem uma ampla gama de aplicações devido à sua capacidade de separar e identificar componentes individuais de uma mistura com alta sensibilidade e seletividade. A cromatografia gasosa, líquida, e suas variantes, como a cromatografia líquida de alta eficiência e a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, são exemplos proeminentes de ferramentas analíticas valiosas na caracterização e quantificação de compostos. No entanto, é crucial considerar os desafios associados à otimização de métodos cromatográficos, incluindo a seleção adequada de colunas, solventes e condições operacionais, bem como a validação rigorosa dos métodos desenvolvidos. Ao superar esses desafios, as técnicas cromatográficas continuarão a desempenhar um papel essencial na pesquisa científica, no controle de qualidade industrial e na segurança dos alimentos, contribuindo assim para o avanço contínuo do conhecimento e da inovação em diversas áreas disciplinares.

Referência

Agencia Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Farmacopeia Brasileira, 5ª edição. Brasília, 2015.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Farmacopeia Brasileira. 6. ed. Brasília: ANVISA, 2019.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Uso racional de medicamentos: temas selecionados / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos – Brasília: Ministério da Saúde, 2012. 156 p: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos)

COSTA E SILVA, José Carlos; SILVA, José Carlos. Cromatografia de camada delgada: fundamentos e aplicações. São Paulo: Edgard Blücher, 2016.

GOULART, Daniel Silva. APLICAÇÕES DAS TÉCNICAS DE CROMATOGRRAFIA NO DIAGNÓSTICO TOXICOLÓGICO NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA. 2012. 37 f. Tese (Doutorado) - Curso de Pós Graduação em Ciência Animal da Escola de Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal de Goiás Escola de Veterinária e Zootecnia Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, Goiânia, 2012. Disponível em:

https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/67/o/Daniel_Goulart_1c.pdf?1349116580.
Acesso em: 05 jun. 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE - MS AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA – ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada - Rdc Nº 658, de 30 de Março de 2022.

Disponível em:

https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6415119/RDC_658_2022_.pdf/aff5cdd7-4ad1-40e8-8751-87df566e6424. Acesso em: 08 jun. 2024.

NASCIMENTO, Julisson Marques Roque do, Mirelle Rodrigues dos Santos, & Maria Salete Vaceli Quintilio. (2022). O controle de qualidade nas indústrias farmacêuticas. Revista JRG De Estudos Acadêmicos, 5(11), 43–55. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7110754>

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA, USP 46. United States Pharmacopei Convention Inc, Rockville, 2021.

VON MÜHLEN, Carin; LANÇAS, Fernando Mauro. Cromatografia unificada. Química Nova, [S.L.], v. 27, n. 5, p. 747-753, out. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422004000500014>.