

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA**

FERNANDO HENRIQUE ANDRADE NOGUEIRA

**AVALIAÇÃO PONTUAL DA QUALIDADE DE ANTIMALÁRICOS NO
SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE - SUS**

Belo Horizonte

2007

FERNANDO HENRIQUE ANDRADE NOGUEIRA

**AVALIAÇÃO PONTUAL DA QUALIDADE DE ANTIMALÁRICOS NO
SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE - SUS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Gérson Antônio Pianetti

Co-orientadora: Profa. Dra. Ligia Maria Moreira de Campos

Belo Horizonte

2007

N778a Nogueira, Fernando Henrique Andrade
Avaliação pontual da qualidade de antimaláricos no Sistema Único de Saúde - SUS . – 2007.
169 f. : il.

Orientador: Professor Dr. Gérson Antônio Pianetti
Co-orientadora: Professora Dra. Ligia Maria Moreira de Campos
Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Antimaláricos - Teses. 2. Malária – Teses. 3. Medicamentos – Controle de qualidade - Teses. I. Pianetti, Gérson Antônio. II. Campos, Ligia Maria Moreira de. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia.

CDD:615.19

A todas as pessoas que sofrem com a malária,
Que este trabalho possa, de alguma forma,
Contribuir para o alívio da sua dor.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pois sem ELE nada seria possível.

Aos técnicos do Programa Nacional de Controle da Malária da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, que acompanharam as visitas de campo e foram importantes facilitadores da execução deste trabalho. Ao Coordenador do PNCM, Dr. José Lázaro de Brito Ladislau pelo apoio financeiro e logístico.

À Organização Pan-Americana da Saúde, na pessoa do Dr. Roberto Montoya pelo apoio financeiro e também por ter sido um dos facilitadores da execução deste trabalho. À Dra. Nelly Marin Jaramillo pela confiança depositada neste laboratório quando do envio da 1ª amostra de comprimidos de cloridrato de mefloquina.

Aos técnicos das secretarias estaduais e municipais de saúde pela compreensão, paciência e dedicação na manutenção das amostras utilizadas neste trabalho.

À Farmacopéia Brasileira pela confiança depositada e apoio financeiro.

Ao CNPq pelo apoio financeiro em projeto específico.

Ao professor Gérson Antonio Pianetti pela orientação, confiança, amizade, dedicação e empreendedorismo dispensados a mim e a este trabalho. Por ter acreditado em mim desde a graduação.

À professora Lígia Maria Moreira de Campos pela co-orientação, dedicação e carinho dispensados a este trabalho e a mim também desde o tempo da graduação. Por ter despertado em mim o interesse pelo controle da qualidade de medicamentos.

À professora Grácia Silva e ao Bibo, do Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química/ICEX pelo auxílio nos experimentos de fotólise do cloridrato de mefloquina.

Aos professores Elzírnia Nunan e Fernão Braga pelas discussões e sugestões importantes dadas ao relatório de desempenho. Também pela amizade e prontidão.

Ao professor Ricardo José Alves pelas sugestões, discussões e amizade. Também por compartilhar comigo a paixão pela música revisitada em nossos duetos esporádicos.

À professora Cristina Soares pelo auxílio na redação do artigo, pelas sugestões e amizade.

Ao grande time de estagiários que contribuíram com este trabalho em etapas diversas, mas sempre com bastante entusiasmo: Felipe Antonacci, Gustavo Portella, Priscila Neves, Gustavo Rezende, Letícia Goulart, Leonardo Tafas, Flávia Bastos e a legião estrangeira composta por Dajana Kostresevic, Kristina Adamovic e Pauline Laurenti.

Ao pessoal do LCQ-FAFAR/UFMG e CEDAFAR pelo apoio constante e amizade: Edna, Lúcia, Mariinha, Márcia, Miriam e Tânia. Em especial a Eld, Nilton e Sônia, que muito me ensinaram no início da minha vida profissional. Aos amigos Luciano, Renan e Léo Marciano pelas conversas descontraídas, cantorias sertanejas e rodízios de pizza.

Às pessoas que conheci nesta caminhada e que lutam diariamente contra a malária: Giselle Rachid, Margarete Gomes, Álvaro Couto, Vanja Couto, Marinete Póvoa, Abdelkrim Smine, Michael Green, Antoniana Krettli e Fernando Varotti. Em especial à Maria da Paz Luna Pereira e Roseli La Corte, que me ensinaram na prática o que é a malária no Brasil.

Aos amigos Isabela, Janaína, José Antônio e Paula pelas discussões profícuas, sugestões e incentivo, também pelo convívio diário e feijoadas na sexta-feira. Aos ex-pós graduandos do LCQ Breno (Brenoca), Christian (Caro Christian), Gisele (Gi), Marcelo (Boquinha), Marcus (Marcola) e Vitor (Vitão) pela amizade, torcida, exemplo e incentivo.

À minha mãe, pelo exemplo de garra e luta. Por torcer por mim desde sempre e mais ainda quando este trabalho se iniciou. Pela preocupação com as viagens, hospedagem, alimentação, notícias... À minha irmã Flávia pela amizade e companheirismo. Ao meu pai que, tenho certeza, adoraria ter visto isso tudo.

À Natália, que marca a minha e vive na minha história. Que é sim e nunca meu não. Que é meu amor, minha musa, minha música, minha vida.

Minha vida é andar
Por esse país
Pra ver se um dia
Descanso feliz
Guardando as recordações
Das terras por onde passei
Andando pelos sertões
E dos amigos que lá deixei.

Chuva e sol
Poeira e carvão
Longe de casa
Sigo o roteiro
Mais uma estação
E alegria no coração

Mar e terra
Inverno e verão
Mostra o sorriso
Mostra a alegria
Mas eu mesmo não
E a saudade no coração

(Luiz Gonzaga e Hervê Cordovil – A vida do viajante)

RESUMO

A malária é a doença parasitária mais devastadora do mundo, com cerca de 300 a 500 milhões de casos resultando em 1 a 3 milhões de mortes anuais. No Brasil, foram relatados ao Ministério da Saúde mais de 540 mil casos da doença em 2006. Entre os maiores problemas relacionados ao tratamento da malária estão o arsenal terapêutico limitado e o aparecimento de resistência aos antimaláricos. A resistência aos antimaláricos pode ser desencadeada por vários fatores, inclusive o uso de medicamentos de má qualidade ou falsos. A qualidade dos medicamentos deve ser continuamente avaliada, principalmente em regiões tropicais como a Amazônica e outras regiões endêmicas. Três estados da Região Norte do Brasil foram escolhidos para a avaliação da qualidade de medicamentos (o almoxarifado estadual e duas localidades em cada estado). Os resultados foram comparados com aqueles apresentados pelo CENADI (Central Nacional de Armazenamento e Distribuição de Insumos), no Rio de Janeiro (área não endêmica). Estes locais foram visitados e fotografados para caracterizar o armazenamento de medicamentos. Amostras contendo comprimidos de difosfato de cloroquina, cloridrato de mefloquina, difosfato de primaquina e sulfato de quinina foram armazenados nas condições ambientais locais por cinco meses. Após este tempo, as amostras foram recolhidas e avaliadas pelo Laboratório de Controle de Qualidade por análises físico-químicas. As amostras foram analisadas segundo métodos das monografias da Farmacopéia Americana 28ª edição e da literatura científica. O armazenamento de medicamentos encontrado na região Norte mostrou-se deficitário e necessita de melhorias. Apenas um almoxarifado estadual apresentou condições apropriadas de armazenagem, porém as amostras não foram analisadas devido a extravio. Os demais almoxarifados estaduais e localidades apresentaram deficiências no armazenamento dos antimaláricos, podendo influir na qualidade destes. As amostras de cloroquina não apresentaram problemas de qualidade. As amostras de primaquina e quinina apresentaram problemas de produção industrial, como variação de peso e de embalagem, sem relação com altas temperaturas e umidade. A porcentagem de cedência de mefloquina da amostra do CENADI apresentou diferença estatisticamente significativa comparada a dos outros locais na Região Norte, causada por problemas de formulação ou mau armazenamento. Um método de cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos foi desenvolvido e validado. As condições cromatográficas otimizadas foram: metanol:tampão fosfato monobásico de potássio (0,05 mol/l) (60:40), fluxo 1 ml/min, coluna C₁₈ 250 x 4,6 mm 5 µm, volume de injeção 20 µl, detecção em 283 nm. O método se mostrou seletivo a produtos de degradação (hidrólise e fotólise) e também em relação a substâncias estruturalmente relacionadas ao cloridrato de mefloquina. A linearidade foi demonstrada na faixa de 50 a 150 µg/ml ($R^2 > 0,99$), bem como a exatidão (98,81 – 100,25%) e precisão (DPR de 0,84%). Os limites de detecção e quantificação foram 0,3 µg/ml e 0,45 µg/ml, respectivamente. O método se mostrou robusto a variações de composição da fase móvel ($\pm 3\%$ MeOH), fluxo ($\pm 0,1$ ml/min) e temperatura (± 5 °C), mas não a variações no pH do tampão utilizado ($\pm 0,5$).

Palavras-chave: Antimaláricos; controle de qualidade; estabilidade; mefloquina; CLAE

ABSTRACT

Malaria is the most devastating parasitic disease in the world, responsible for 300 to 500 million cases and 1 to 3 million deaths per year. The Brazilian Ministry of Health accounted for about 540 thousand cases in 2006. Among the greatest problems related to malaria therapy are the limited therapeutic arsenal and the plasmodium resistance to antimalarials. Antimalarial resistance can be triggered by many factors, including the use of substandard and/or counterfeit drugs. Drug quality must be continuously evaluated, mainly in tropical regions such as the Brazilian Amazon and other similarly endemic malarial regions. Three states in the North region of Brazil were selected for this antimalarial drug quality evaluation (the state storeroom and two localities in each state). Results were compared to those presented by CENADI (Central Nacional de Armazenamento e Distribuição de Insumos), located in Rio de Janeiro (non-endemic area). These locations have been visited and photographed, in order to assess drug storage conditions. Samples containing chloroquine phosphate, mefloquine hydrochloride, primaquine phosphate and quinine sulfate in the form of tablets were submitted to ambient conditions in those places for five months. Thereafter, they were collected and evaluated by the Quality Control Laboratory for physical-chemical analysis. All samples were assayed according to United States Pharmacopeia 28nd edition and methods from scientific literature. Drug storage conditions were found inappropriate and needed improvements. Only one state storeroom showed adequate storage conditions, however samples were not evaluated due to misplacement. The remaining state storerooms and localities presented several improprieties which can affect drug quality. Chloroquine samples showed no quality problems. Primaquine and quinine samples were found with manufacturing problems such as bad weight variation and packaging, not related to heat and humidity. Release of mefloquine from tablets from CENADI location showed statistically significant difference with those stored in the North region, due to formulation problems or bad storage conditions. A method to assay mefloquine hydrochloride in tablets using high performance liquid chromatography was developed and validated in this work. Optimal chromatographic conditions were: methanol:monobasic potassium phosphate (0,05 mol/l) (60:40), flow rate 1 ml/min, C₁₈ column 250 x 4,6 mm 5 µm, injection volume 20 µl, detection 283 nm. It showed selectivity to degradation products (hydrolysis and photolysis) and to substances structurally related to mefloquine hydrochloride. Linearity was demonstrated in the range 50 – 150 µg/ml ($R^2 > 0,99$), and also accuracy (98.81 – 100.25%) and precision (RSD of 0.84%). Detection limit and quantitation limit were 0.3 µg/ml and 0.45 µg/ml, respectively. The results remained unaffected by modifications in the mobile phase composition ($\pm 3\%$), flow rate ($\pm 0,1$ ml/min) and temperature ($\pm 5^\circ\text{C}$), but not to changes in the buffer pH ($\pm 0,5$).

Keywords: Antimalarial; quality control; stability; mefloquine; HPLC

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo esquizogônico do <i>Plasmodium</i> (BRASIL, 2001).....	29
Figura 2 – Fórmulas estruturais de fármacos utilizados no tratamento de malária.....	37
Figura 3 – Representação esquemática do ciclo biológico dos plasmódios e indicação dos alvos de ação dos antimaláricos (GUERIN <i>et al.</i> , 2002).....	38
Figura 4 – Fórmula estrutural do sulfato de quinina.....	40
Figura 5 – Fórmula estrutural do difosfato de cloroquina.....	41
Figura 6 – Fórmula estrutural do difosfato de primaquina.....	43
Figura 7 – Fórmula estrutural do cloridrato de mefloquina.....	45
Figura 8 – Aspecto da amostra de comprimidos de cloroquina recolhida em D ₁	72
Figura 9 – Detalhe da rotulagem dos comprimidos de cloroquina.....	73
Figura 10 – Sobreposição dos espectros na região do ultravioleta da solução padrão de difosfato de cloroquina e de uma amostra de comprimidos.....	73
Figura 11 – Curva analítica para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos por espectrofotometria no ultravioleta, utilizando metanol como solvente.....	78
Figura 12 – Curva analítica para a determinação da cedência, por espectrofotometria no ultravioleta, de cloridrato de mefloquina de comprimidos no teste de dissolução utilizando ácido clorídrico 0,1 mol/l como solvente.....	79
Figura 13 – Sobreposição dos espectros na região do ultravioleta de uma amostra de comprimidos e do padrão de cloridrato de mefloquina.....	82
Figura 14 – Relação entre os teores de cloridrato de mefloquina e as porcentagens de cedência no teste de dissolução de comprimidos de cloridrato de mefloquina de todos os locais de armazenamento estudados.....	83
Figura 15 – Representação gráfica da correlação entre os valores de teor e porcentagem de cedência de cloridrato de mefloquina dos comprimidos das regiões estudadas.....	84
Figura 16 – Amostra de comprimidos de primaquina armazenados na região A (CENADI) apresentando a folha de alumínio do blister descolada.....	86
Figura 17 – Sobreposição dos cromatogramas do padrão de difosfato de primaquina e de uma amostra de comprimidos e sobreposição dos espectros na região do ultravioleta referentes aos picos cromatográficos (inserto).....	87

Figura 18 – Variação porcentual em relação ao peso médio no teste de determinação de peso de comprimidos de quinina do lote final 1022 do local A. As setas indicam os limites de especificação da F.Bras.IV.	90
Figura 19 – Variação porcentual em relação ao peso médio no teste de determinação de peso da amostra de comprimidos de quinina do lote final 4103 do local C ₂ . As setas indicam os limites de especificação da F.Bras.IV.	91
Figura 20 – Sobreposição dos cromatogramas do padrão de quinina e de amostras dos dois lotes analisados (Q = quinina; DHQ = diidroquinina).....	92
Figura 21 – Desenho esquemático do aparato utilizado para a fotólise do cloridrato de mefloquina.....	99
Figura 22 – Separação cromatográfica de duas substâncias.....	108
Figura 23 – Pico cromatográfico assimétrico.....	108
Figura 24 – Cromatograma do gradiente exploratório amplo para cloridrato de mefloquina - MQ ($t_r = 40,984$ min; detecção $\lambda = 283$ nm).....	109
Figura 25 – Cromatograma da eluição em modo isocrático do cloridrato de mefloquina ($t_r = 5,987$ min; $k = 1,28$). Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,0 (65:35); fluxo 1,0 ml/min; coluna C ₁₈ a 30 °C; detecção $\lambda = 283$ nm.	111
Figura 26 – Variação do tempo de retenção do cloridrato de mefloquina em função do pH do tampão da fase móvel utilizando-se duas colunas cromatográficas. (Adaptado de GREEN <i>et al.</i> , 1999).....	111
Figura 27 – Ampliação da sobreposição do cromatograma do branco com ácido clorídrico (tracejado) e do cromatograma da amostra contendo cloridrato de mefloquina (MQ) retirada em 9 horas de reação (linha cheia). (PD = produto de degradação).....	113
Figura 28 – Ampliação da sobreposição do cromatograma do branco com hidróxido de sódio (tracejado) e do cromatograma da amostra contendo cloridrato de mefloquina (MQ) retirada em 9 horas de reação (linha cheia). (PD = produto de degradação).....	113
Figura 29 – Ampliação da sobreposição do cromatograma do branco utilizando água ultra-pura (tracejado) e do cromatograma da amostra contendo cloridrato de mefloquina (MQ) retirada em 9 horas de reação (linha cheia). (PD = produto de degradação).....	114
Figura 30 – Ampliação da sobreposição do cromatograma do branco utilizando peróxido de hidrogênio (tracejado) e do cromatograma da amostra contendo cloridrato de mefloquina (MQ) retirada em 9 horas de reação (linha cheia). (PD = produtos de degradação).....	115
Figura 31 – Cromatograma da solução de fotólise após 8 horas de experimento (cloridrato de mefloquina, $t_r = 6,118$ min, $k = 1,47$; IMP1, $t_r = 5,228$ min, $k = 1,11$). Condições	

cromatográficas: metanol:tampão pH 3,5 (65:35); fluxo 1,0 ml/min; coluna C ₁₈ a 30 °C; detecção $\lambda = 222$ nm.....	116
Figura 32 – Ampliação do cromatograma da solução de fotólise após 8 horas de experimento (cloridrato de mefloquina, $t_r = 6,118$ min, $k = 1,47$; IMP1, $t_r = 5,228$ min, $k = 1,11$). Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,5 (65:35); fluxo 1,0 ml/min; coluna C ₁₈ a 30 °C; detecção $\lambda = 222$ nm.....	117
Figura 33 – Ampliação do cromatograma da solução de fotólise após 12 horas de experimento (cloridrato de mefloquina, $t_r = 9,103$ min, $k = 2,69$; IMP1, $t_r = 7,215$ min, $k = 1,92$). Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,5 (60:40); fluxo 1,0 ml/min; coluna C ₁₈ a 30 °C; detecção $\lambda = 222$ nm.....	117
Figura 34 – Sobreposição dos espectros na região do ultravioleta da solução de fotólise do cloridrato de mefloquina no tempo zero e após 4, 8 e 12 horas de reação. Os comprimentos de onda máximos estão em destaque.....	118
Figura 35 – Gráfico do logaritmo da porcentagem de cloridrato de mefloquina remanescente em função do tempo de exposição da solução à luz UV.	119
Figura 36 – Cromatograma da solução de cloridrato de mefloquina (MQ) após 12h de exposição à lâmpada UV. Os espectros na região do ultravioleta dos insertos foram obtidos na faixa de 200 nm a 400 nm. Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,5 (50:50); fluxo 1,0 ml/min; coluna C ₁₈ a 30 °C; detecção $\lambda = 222$ nm	120
Figura 37 – Cromatograma da solução contendo difosfato de cloroquina (CQ), sulfato de quinina (Q), difosfato de primaquina (PQ) e cloridrato de mefloquina (MQ) todos a 0,1 mg/ml em fase móvel. Os espectros na região do ultravioleta dos insertos foram obtidos na faixa de 200 nm a 400 nm. Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,5 (60:40); fluxo 1,0 ml/min; coluna C ₁₈ a 30 °C; detecção $\lambda = 283$ nm	122
Figura 38 – Representação gráfica da curva analítica para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos.....	123
Figura 39 – Representação gráfica da distribuição dos resíduos da curva analítica para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos.	124
Figura 40 – Cromatogramas da solução padrão (superior) e da solução amostra (inferior) de cloridrato de mefloquina do estudo da precisão do método por CLAE aplicado a comprimidos	126
Figura 41 – Cromatograma a 283 nm da solução de cloridrato de mefloquina a 0,3 μ g/ml. 128	
Figura 42 – Ampliação da sobreposição dos cromatogramas da solução padrão (pontilhado) e da solução amostra B _{ES} (linha cheia).....	133

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Zonas climáticas internacionais (THE UNITED, 2006).....	22
Tabela 2 – Esquema recomendado para tratamento das infecções por <i>Plasmodium vivax</i> com comprimidos de cloroquina 150 mg em três dias e primaquina (adulto 15 mg e infantil 5 mg) em sete dias (BRASIL, 2001).....	32
Tabela 3 – Esquema de 1ª escolha, recomendado para tratamento das infecções por <i>Plasmodium falciparum</i> com a associação de artemeter + lumefantrina (Coartem® 20 + 120 mg) em 3 dias (BRASIL, 2006)	33
Tabela 4 – Esquema de segunda escolha recomendado para tratamento das infecções por <i>Plasmodium falciparum</i> com comprimidos de sulfato de quinina 500 mg em três dias, doxiciclina 100 mg em cinco dias e primaquina (adulto 15 mg, infantil 5 mg) no 6º. dia (BRASIL, 2001; BRASIL, 2006).....	33
Tabela 5 – Antimaláricos: ano de introdução na terapêutica e ano da primeira notificação de resistência (WONGSRICHANALAI <i>et al.</i> , 2002)	35
Tabela 6 – Principais fármacos antimaláricos organizados por grupo químico (SWEETMAN, 2005).....	36
Tabela 7 – Métodos analíticos utilizando CLAE para a determinação de cloridrato de mefloquina matéria-prima, em comprimidos e em líquidos biológicos	46
Tabela 8 – Avaliações da qualidade de medicamentos antimaláricos.....	48
Tabela 9 – Relação das substâncias químicas de referência (SQR) utilizadas na avaliação da qualidade dos antimaláricos e respectivas marcas, números de lote, validade e pureza.	49
Tabela 10 – Relação dos medicamentos utilizados na avaliação da qualidade dos antimaláricos e respectivos números de lote, datas de fabricação e validade.	49
Tabela 11 – Limites de aceitação de comprimidos no teste de determinação de peso em formas farmacêuticas (FARMACOPÉIA, 1988)	54
Tabela 12 – Condições do teste de dissolução para comprimidos de difosfato de cloroquina	55
Tabela 13 – Critérios de aceitação para o teste de dissolução, segundo a F.Bras.IV	55
Tabela 14 – Condições do teste de dissolução para comprimidos de cloridrato de mefloquina	61
Tabela 15 – Condições cromatográficas para o teste de identificação de primaquina por CCD em comprimidos segundo os manuais do GHPF Minilab (JAHNKE <i>et al.</i> , 2004).....	62

Tabela 16 – Condições cromatográficas para a determinação de cedência no teste de dissolução e teor no teste de uniformidade de conteúdo para comprimidos de difosfato de primaquina.....	63
Tabela 17 – Condições do teste de dissolução para comprimidos de difosfato de primaquina	64
Tabela 18 – Condições do teste pureza cromatográfica para comprimidos de sulfato de quinina.....	66
Tabela 19 – Condições do teste de dissolução para comprimidos de sulfato de quinina	66
Tabela 20 – Condições cromatográficas para a determinação de teor de sulfato de quinina em comprimidos.....	67
Tabela 21 – Resumo das condições de armazenamento de medicamentos antimaláricos observadas no CENADI (A) e nos almoxarifados estaduais (B, C e D).....	69
Tabela 22 – Resumo das condições de armazenamento de medicamentos antimaláricos observadas nas UBS das localidades.....	71
Tabela 23 – Razão entre as absorvâncias a 343 nm e 329 nm para teste de identificação de cloroquina em comprimidos	73
Tabela 24 – Resultados dos testes realizados com amostras de comprimidos de difosfato de cloroquina por local de armazenamento.....	76
Tabela 25 – Concentrações de cloridrato de mefloquina, absorvâncias medidas e fatores de resposta para a construção da curva analítica do método de doseamento em comprimidos, utilizando metanol como solvente.....	77
Tabela 26 – Concentrações de cloridrato de mefloquina, absorvâncias medidas e fatores de resposta para a construção da curva analítica do método de determinação da cedência em comprimidos no teste de dissolução por espectrofotometria no ultravioleta utilizando ácido clorídrico 0,1 mol/l como solvente.....	79
Tabela 27 – Valores médios de absorvância e teor de cloridrato de mefloquina em comprimidos para avaliação da precisão do método de doseamento por espectrofotometria no UV	80
Tabela 28 – Porcentagens de recuperação do padrão de cloridrato de mefloquina adicionado à amostra contendo quantidade conhecida do analito para avaliação da exatidão do método para doseamento no UV	81
Tabela 29 – Resultados dos testes realizados com amostras de comprimidos de cloridrato de mefloquina por local de armazenamento.....	85

Tabela 30 – Resultados dos testes realizados com amostras de comprimidos de difosfato de primaquina por local de armazenamento.....	88
Tabela 31 – Resultados dos testes realizados com amostras de comprimidos de sulfato de quinina por local de armazenamento.....	94
Tabela 32 – Condições cromatográficas para a corrida exploratória em gradiente para cloridrato de mefloquina.....	96
Tabela 33 – Condições cromatográficas utilizadas no estudo de seletividade para a determinação de cloridrato de mefloquina em modo isocrático.....	97
Tabela 34 – Preparo das soluções para o estudo de estabilidade intrínseca do cloridrato de mefloquina.....	98
Tabela 35 – Condições cromatográficas otimizadas para a determinação de cloridrato de mefloquina, na presença dos produtos de fotólise, em modo isocrático.	100
Tabela 36 – Preparo das soluções de cloridrato de mefloquina para avaliação da linearidade do método para doseamento por CLAE	101
Tabela 37 – Preparo das soluções fortificadas de cloridrato de mefloquina para avaliação da exatidão do método para doseamento por CLAE.....	103
Tabela 38 – Condições cromatográficas utilizadas para a avaliação da robustez do método por CLAE.....	104
Tabela 39 – Preparo de soluções para a comparação entre os métodos espectrofotométrico e por CLAE para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos.....	105
Tabela 40 – Símbolos e fórmulas utilizados nos cálculos dos parâmetros cromatográficos (SNYDER <i>et al.</i> , 1997; THE UNITED, 2006).....	107
Tabela 41 – Estimativa da porcentagem de modificador orgânico para uma corrida cromatográfica em modo isocrático baseada no tempo de retenção do pico obtido em uma corrida exploratória em gradiente (SNYDER <i>et al.</i> , 1997).....	110
Tabela 42 – Dados de tempo de exposição, áreas do pico principal, porcentagem de área remanescente e logaritmo da porcentagem de área remanescente para construção do gráfico de decaimento da concentração de cloridrato de mefloquina em função do tempo de exposição	119
Tabela 43 – Propostas de fórmulas estruturais, números de CAS, nomes químicos, fórmulas moleculares e massas molares dos produtos de degradação pela luz do cloridrato de mefloquina em solução aquosa (TONNESEN <i>et al.</i> , 1990).....	121
Tabela 44 – Concentrações de cloridrato de mefloquina e valores de área para a construção da curva analítica do método de doseamento em comprimidos utilizando CLAE	123

Tabela 45 – Valores de área e teor de cloridrato de mefloquina em comprimidos para avaliação da precisão do método de doseamento por CLAE	125
Tabela 46 – Porcentagens de recuperação do padrão de cloridrato de mefloquina adicionado à amostra contendo quantidade conhecida do analito para avaliação da exatidão do método para doseamento por CLAE aplicado a comprimidos.....	127
Tabela 47 – Tempos de retenção e valores de área de cinco injeções de uma solução de cloridrato de mefloquina a 0,45 µg/ml para verificação do limite de quantificação do método por CLAE	128
Tabela 48 – Resultados das determinações de cloridrato de mefloquina em diversas condições para a avaliação da robustez do método por CLAE	129
Tabela 49 – Valores médios de área, fator de retenção, fator de cauda e número de pratos teóricos relativos ao pico de cloridrato de mefloquina da solução padrão para o estudo da robustez do método CLAE. Em parênteses é apresentado o DPR dos valores de cinco injeções (n=5).	130
Tabela 50 – Parâmetros de adequabilidade do sistema recomendados pelo FDA e sugeridos para o método proposto.	130
Tabela 51 – Resultados das determinações de cloridrato de mefloquina em comprimidos utilizando os métodos cromatográfico e espectrofotométrico.....	131
Tabela 52 – Resultados das determinações de cloridrato de mefloquina nos comprimidos da avaliação da qualidade de medicamentos antimaláricos no sistema único de saúde – SUS utilizando os métodos cromatográfico e espectrofotométrico.....	132

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BP	<i>British Pharmacopoeia</i> ; Farmacopéia Britânica
CENADI	Central Nacional de Armazenagem e Distribuição de Insumos
CLAE	Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência
DAD	Detector de arranjo de diodos
F.Bras.IV	Farmacopéia Brasileira 4ª edição
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> - EUA
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i> ; Conferência Internacional de Harmonização
IPA	Índice parasitário anual
LFM	Laboratório Farmacêutico da Marinha
LQFEx	Laboratório Químico Farmacêutico do Exército
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
PAHO	<i>Pan American Health Organization</i> ; Organização Pan Americana da Saúde
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SDX-PIR	Sulfadoxina-Pirimetamina
SQR	Substância química de referência
SUS	Sistema Único de Saúde
UBS	Unidade Básica de Saúde
USP	<i>United States Pharmacopeia</i> ; Farmacopéia Americana
UV	Ultravioleta
WHO	<i>World Health Organization</i> ; Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

RESUMO	
ABSTRACT	
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE TABELAS	
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	
1 INTRODUÇÃO	21
2 OBJETIVOS	25
2.1 Objetivo geral	25
2.2 Objetivos específicos	25
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	26
3.1 A malária	26
3.1.1 Agente etiológico	27
3.1.2 Ciclo biológico, patogenia e quadro clínico	27
3.1.3 Diagnóstico e tratamento	30
3.1.4 Determinantes da resistência do plasmódio aos antimaláricos	33
3.2 Os antimaláricos	35
3.2.1 Sulfato de quinina	38
3.2.2 Difosfato de cloroquina	41
3.2.3 Difosfato de primaquina	42
3.2.4 Cloridrato de mefloquina	44
3.3 Avaliações da qualidade de medicamentos antimaláricos	47
4 CAPÍTULO I: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE ANTIMALÁRICOS NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE - SUS	49
4.1 Materiais e Métodos	49
4.1.1 Materiais	49
4.1.1.1 Substâncias químicas de referência e amostras	49
4.1.1.2 Reagentes e vidraria	50
4.1.1.3 Equipamentos	50
4.1.2 Métodos	51
4.1.2.1 Desenho do estudo	51
4.1.2.2 Escolha dos locais participantes	52

4.1.2.3	Visita aos locais participantes e entrega das amostras do estudo	52
4.1.2.4	Recolhimento das amostras do estudo	53
4.1.2.5	Controle de qualidade de comprimidos de difosfato de cloroquina	53
4.1.2.6	Controle de qualidade de comprimidos de cloridrato de mefloquina	57
4.1.2.7	Controle de qualidade de comprimidos de difosfato de primaquina	62
4.1.2.8	Controle de qualidade de comprimidos de sulfato de quinina	65
4.2	Resultados e discussão	69
4.2.1	Avaliação das condições de armazenamento de antimaláricos	69
4.2.1.1	CENADI e almoxarifados estaduais	69
4.2.1.2	Unidades básicas de saúde (UBS) nas localidades	70
4.2.2	Avaliação da qualidade de antimaláricos	72
4.2.2.1	Controle de qualidade de comprimidos de difosfato de cloroquina	72
4.2.2.2	Controle de qualidade de cloridrato de mefloquina comprimidos	77
4.2.2.3	Controle de qualidade de comprimidos de difosfato de primaquina	86
4.2.2.4	Controle de qualidade de comprimidos de sulfato de quinina	89
5	CAPÍTULO II: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA A DETERMINAÇÃO DE CLORIDRATO DE MEFLOQUINA EM COMPRIMIDOS	95
5.1	Materiais e métodos	95
5.1.1	Materiais	95
5.1.1.1	Substâncias químicas de referência e amostras	95
5.1.1.2	Reagentes e vidraria	95
5.1.1.3	Equipamentos	95
5.1.2	Métodos	96
5.1.2.1	Seleção e otimização das condições cromatográficas	96
5.1.2.2	Seletividade	97
5.1.2.3	Linearidade	100
5.1.2.4	Precisão intra-ensaio e precisão inter-ensaios	101
5.1.2.5	Exatidão	102
5.1.2.6	Limite de detecção e limite de quantificação	103
5.1.2.7	Robustez e adequabilidade do sistema	104
5.1.2.8	Comparação entre os métodos cromatográfico e espectrofotométrico para determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos	105

5.1.2.9 Determinação de teor de cloridrato de mefloquina nos comprimidos da avaliação da qualidade de antimaláricos no sistema único de saúde – SUS	106
5.1.2.10 Cálculos dos parâmetros cromatográficos.....	107
5.2 Resultados e discussão	109
5.2.1 Seleção e otimização das condições cromatográficas	109
5.2.2 Seletividade	112
5.2.2.1 Estabilidade do cloridrato de mefloquina frente a condições de estresse.....	112
5.2.2.2 Fotoestabilidade do cloridrato de mefloquina	116
5.2.2.3 Seletividade frente às substâncias estruturalmente relacionadas ao cloridrato de mefloquina.....	122
5.2.3 Linearidade.....	122
5.2.4 Precisão intra-ensaio e inter-ensaios.....	124
5.2.5 Exatidão	126
5.2.6 Limite de detecção e limite de quantificação	127
5.2.7 Robustez e adequabilidade do sistema	128
5.2.8 Comparação entre os métodos cromatográfico e espectrofotométrico para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos	131
5.2.9 Determinação de teor de cloridrato de mefloquina nos comprimidos da avaliação da qualidade de antimaláricos no sistema único de saúde - SUS.....	132
6 CONCLUSÕES	134
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	136
ANEXO A	143
ANEXO B	147
ANEXO C	168

1 INTRODUÇÃO

A malária é a doença parasitária mais importante do mundo, posicionando-se entre os maiores desafios para os países mais pobres na área de saúde e desenvolvimento. Mais de um terço da população mundial reside em áreas endêmicas e cerca de um bilhão de pessoas porta o parasito em alguma fase da vida (GUERIN *et al.*, 2002). A doença causa pelo menos 300 milhões e, possivelmente, algo como 500 milhões de casos agudos a cada ano, resultando em mais de 3000 mortes diárias, a maioria crianças na África Sub-Saariana. Entre os adultos, as mulheres grávidas constituem o principal grupo de risco (WHO, 2002).

A malária continua sendo um grave problema de Saúde Pública na Região Amazônica, devido à sua alta incidência e aos efeitos debilitantes para as pessoas acometidas por essa doença, com um importante potencial de influenciar o próprio desenvolvimento daquela região (BRASIL, 2005). Apesar de uma redução do número de casos de aproximadamente 10%, em relação a 2005, foram registrados, em 2006, mais de 540.000 casos de malária na Região Amazônica (BRASIL, 2007).

A Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME, 2002) relaciona para o tratamento da malária os seguintes medicamentos: artemeter solução injetável, artesunato de sódio comprimidos e solução injetável, clindamicina cápsulas, cloroquina comprimidos e solução injetável, doxiciclina drágeas, mefloquina comprimidos, primaquina comprimidos e quinina comprimidos e solução injetável. Os medicamentos mais utilizados no programa nacional de malária são: fosfato de cloroquina, cloridrato de mefloquina, sulfato de quinino e fosfato de primaquina, todos na forma farmacêutica comprimidos. Segundo dados da Organização Pan-Americana da Saúde, no ano de 2005 foram distribuídos, somente no Brasil, 14.573.592 comprimidos de primaquina, 9.130.088 comprimidos de cloroquina, 2.600.211 comprimidos de quinina e 739.802 comprimidos de mefloquina (PAHO, 2006). A quantidade destes medicamentos distribuída em 2005 é mais que o dobro daquela distribuída dois anos antes no país (PAHO, 2003).

A Amazônia é uma região com temperatura e umidade relativa altas, sendo por isso classificada juntamente com o Brasil na zona climática IV (Tabela 1). Estas condições climáticas geralmente aceleram a degradação química e podem alterar as propriedades

biofarmacêuticas dos medicamentos (KAYUMBA *et al.*, 2004). Este é um dado importante, pois o uso de doses subterapêuticas de antimaláricos pode exercer uma pressão seletiva levando a organismos resistentes aos fármacos, resultado de infecções tratadas incompletamente com medicamentos de má qualidade (TAYLOR *et al.*, 1995).

Tabela 1 – Zonas climáticas internacionais (THE UNITED, 2006)

<i>Zona Climática</i>	<i>Regiões</i>
I. Temperada	Japão Reino Unido Europa Setentrional Canadá Rússia Estados Unidos da América
II. Mediterrânea, subtropical	Estados Unidos da América Japão Europa meridional (Portugal – Grécia)
III. Quente, seco	Irã Iraque Sudão
IV. Quente, úmido	Brasil Gana Indonésia Nicarágua Filipinas

O tratamento adequado da malária requer que medicamentos eficazes e seguros estejam disponíveis aos pacientes de uma maneira que a vida útil dos fármacos esteja maximizada, ou seja, que o paciente fique protegido da resistência. Segundo HASTINGS e D'ALESSANDRO (2000), a resistência acontece mais frequentemente quando:

- A imunidade do paciente é baixa, ou seja, não contribui significativamente para o extermínio do parasita, tarefa que caberá aos medicamentos;
- A parasitemia é alta, pois a variabilidade genética será maior;
- A taxa de transmissão é baixa – a chance de o parasita infectante ser de uma única cepa é maior, evitando a competição entre parasitas sensíveis e resistentes ao tratamento;
- A pressão medicamentosa é intensa, já que os parasitas serão mais expostos aos medicamentos, aumentando a chance de seleção daqueles resistentes.

O uso descontrolado dos medicamentos, medicamentos de má qualidade ou falsos também contribuem para o aparecimento de resistência (GUERIN *et al.*, 2002). Além disso, o uso de medicamentos anti-infecciosos de má qualidade ou falsos contribuem para o aumento da morbidade e mortalidade, reações adversas devido à dose excessiva e/ou presença de contaminantes patogênicos, aumento dos custos do sistema de saúde, diminuição da confiança no sistema de saúde e nas autoridades sanitárias e, como já citado, a seleção de parasitas resistentes com o uso de doses subterapêuticas do princípio ativo (NEWTON *et al.*, 2006). Assim, dado à importância da qualidade dos medicamentos no tratamento da malária, avaliações de antimaláricos são frequentemente realizadas em diversos países do mundo, principalmente em regiões tropicais como, por exemplo, o sudoeste da Ásia, Oriente Médio, África subsaariana, América Central e do Sul.

Sobre os métodos analíticos para a verificação da qualidade dos comprimidos de cloroquina, quinina, primaquina e mefloquina, estão disponíveis nas farmacopéias Brasileira e internacionais autorizadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA (BRASIL, 2003b; BRASIL, 2006) monografias para os três primeiros produtos, faltando a metodologia analítica para a análise de mefloquina comprimidos.

O País tem aplicado recursos importantes no combate à malária e tem observado falhas terapêuticas que podem estar associadas, entre outros fatores, à qualidade dos medicamentos fornecidos por empresas estatais ou importados pela Organização Pan-Americana da Saúde.

Por outro lado, novas pesquisas estão em fase de desenvolvimento avaliando novas possibilidades terapêuticas por meio de associações com fármacos mais modernos. Há um projeto integrado, patrocinado pelo Ministério da Saúde do Brasil e pela Organização Pan-Americana da Saúde, do qual o Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Farmácia da UFMG é signatário. A parcela do trabalho que cabe à UFMG é a de rastrear a qualidade dos produtos ministrados aos portadores da doença e, principalmente, o de deixar definida a qualidade dos fármacos utilizados nas produções farmacêuticas, por meio de métodos validados que possam identificar a qualidade da matéria-prima adquirida, tanto no mercado nacional quanto no internacional.

Inexiste, no Brasil, um estudo sobre a qualidade dos medicamentos antimaláricos armazenados na Região Amazônica, fator este que, em caso de problemas, poderia ser uma

das causas da recrudescência da doença. É necessário conhecer a qualidade por meio de testes capazes de avaliar o comportamento dos medicamentos frente às condições climáticas na região. Por outro lado, métodos analíticos para produtos farmacêuticos de interesse nacional devem ser objeto de pesquisa e publicação visando buscar uma independência na produção e no conseqüente controle de qualidade para a garantia do nível sanitário de sua população.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Avaliar a qualidade dos medicamentos utilizados no tratamento da malária, armazenados na Região Amazônica do Brasil.

2.2 Objetivos específicos

- Verificar as condições de armazenamento de medicamentos antimaláricos na Central Nacional de Armazenamento e Distribuição de Insumos (CENADI), em almoxarifados estaduais e em localidades da Região Amazônica.
- Verificar a qualidade de comprimidos de cloroquina, mefloquina, primaquina e quinina armazenados por cinco meses em almoxarifados estaduais e localidades de três estados da Região Amazônica.
- Verificar a qualidade de comprimidos de cloroquina, mefloquina, primaquina e quinina armazenados por cinco meses na Central Nacional de Armazenamento e Distribuição de Insumos (CENADI), localizada na cidade do Rio de Janeiro (RJ).
- Comparar os resultados das amostras que permaneceram nos estados do Norte do Brasil com aquelas que permaneceram no CENADI.
- Desenvolver e validar método por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 A malária

A malária sempre foi, desde a Antiguidade, um dos principais flagelos da humanidade. A doença mata, atualmente, duas vezes mais que a AIDS e muito mais do que qualquer outra doença infecciosa. A malária está presente, também, em mais de 90 países, embora com prevalência diferente. Os mais comprometidos são Índia, Brasil, Afeganistão e países asiáticos, incluindo a China, sem contar os países africanos, nos quais 3000 crianças morrem por dia em decorrência da malária (CAMARGO, 2003).

A malária é tipicamente uma doença do mundo subdesenvolvido. Já desapareceu da Europa e da América do Norte, onde vicejou até a metade do século XX. Na última década, apenas cerca de 400 casos anuais de malária foram registrados no Canadá e 900 nos EUA. Porém, a grande maioria destes casos era importada: apenas uma dezena se originando no próprio país, a maioria resultante de transfusões de sangue (CAMARGO, 2003).

Também conhecida como paludismo, febre palustre, impaludismo, maleita ou sezão, a malária foi primeiramente citada na era Pré-Cristã, por Hipócrates. Foi ele quem descobriu as suas características de ocorrência sazonal e de febre com padrão paroxístico e intermitente. Entretanto, foi somente no século XIX que o termo malária teve origem. Escritores italianos defendiam a tese que a doença era causada por vapores nocivos exalados dos pântanos tiberianos, designando-a “mal aria” cujo sentido literal é “mau ar”. Apenas em 1880, um médico francês, Charles Louis Alphonse Laveran, conseguiu observar organismos em movimento ao examinar, a fresco, o sangue de um paciente com malária. Estudos posteriores permitiram que os pesquisadores italianos Grassi, Bastianelli e Bignami, em 1898 e 1899, tivessem a glória de descobrir o desenvolvimento completo das três espécies de plasmódio humano em anofelinos (BRAGA & FONTES, 2002).

A partir do conhecimento do ciclo de vida do parasito e, visando à interrupção de sua transmissão, diferentes estratégias de ataque à doença têm sido propostas. Entre elas destaca-se o Programa de Erradicação da Malária, proposto em 1955 pela Organização Mundial da

Saúde (OMS), centrado principalmente em ações verticais, incluindo a borrifação de paredes com inseticida de ação residual (DDT) e o tratamento em massa com um antimalárico de baixa toxicidade, a cloroquina. Este esforço mundial para erradicar a doença, apesar de bem-sucedido em vários países, apresentou efeito limitado em extensas regiões da África, Ásia e América do Sul, incluindo a Amazônia brasileira. Todavia, a emergência da resistência de parasitos aos antimaláricos e as limitações do uso de inseticidas, associadas ao panorama político-econômico mundial, desencadearam um agravamento da situação epidemiológica da malária nas três últimas décadas. O reconhecimento deste panorama fez com que a estratégia de enfrentamento do problema fosse modificada ao longo dos anos. Atualmente a OMS possui um plano de ação que enfatiza a integração das atividades de controle às atividades dos serviços gerais de saúde, reconhecendo as especificidades locais de cada situação a ser enfrentada (BRAGA & FONTES, 2002).

Todo esse sofrimento a humanidade deve a dois inimigos que se aliaram há milênios para sevicar a espécie humana: um protozoário e um mosquito (CAMARGO, 2003).

3.1.1 Agente etiológico

Os parasitas causadores de malária pertencem ao filo Apicomplexa, família Plasmodiidae e ao gênero *Plasmodium*. Atualmente são conhecidas 150 espécies causadoras de malária em diferentes hospedeiros vertebrados. Destas, apenas quatro espécies parasitam o homem: *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale*. Este último ocorre apenas em regiões restritas do continente africano (BRAGA & FONTES, 2002).

3.1.2 Ciclo biológico, patogenia e quadro clínico

Embora a malária possa ser transmitida por transfusão de sangue infectado e pelo compartilhamento de agulhas, os seres humanos habitualmente se infectam por esporozoítos injetados pela picada da fêmea do mosquito infectada (TRACY & WEBSTER, 2003). No Brasil, a principal espécie transmissora é o *Anopheles darlingi*, ausente das áreas urbanizadas brasileiras e restrito à Amazônia (CAMARGO, 2003). Estes esporozoítos saem rapidamente da circulação sanguínea e se localizam nos hepatócitos, onde se transformam, multiplicam e se desenvolvem em esquizontes tissulares. Este estágio tissular primário assintomático (pré-eritrocítico ou exoeritrocítico) da infecção dura de 5 a 15 dias, dependendo da espécie de

Plasmodium. Os esquizontes então se rompem, cada qual liberando milhares de merozoítos que penetram na circulação, invadem os eritrócitos e iniciam o estágio eritrocitário da infecção cíclica. Uma vez ocorrida a explosão de esquizontes tissulares na infecção por *P. falciparum* e por *P. malariae*, nenhuma forma do parasito permanece no fígado. Mas na infecção por *P. vivax* e *P. ovale*, persistem parasitos tissulares que podem causar recidivas da infecção eritrocítica meses a anos após a primeira crise. A origem dessas formas tissulares latentes não é clara. Nos eritrócitos, a maioria dos parasitos sofre desenvolvimento assexuado de formas anelares jovens até trofozoítos e finalmente até esquizontes maduros. Os eritrócitos contendo esquizontes se rompem, cada qual liberando 6 a 24 merozoítos, dependendo da espécie de *Plasmodium*. Os merozoítos liberados invadem mais eritrócitos para perpetuar o ciclo, que continua até a morte do hospedeiro ou a modulação por fármacos ou a imunidade parcial adquirida (TRACY & WEBSTER, 2003). Depois de algumas gerações de merozoítos sanguíneos, ocorre a diferenciação em estágios sexuados, os gametócitos, que não mais se dividem e que seguirão o seu desenvolvimento no mosquito vetor, dando origem aos esporozoítos (BRAGA & FONTES, 2002).

O ciclo sangüíneo se repete sucessivas vezes, a cada 48 horas, nas infecções pelo *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. ovale*, e a cada 72 horas, nas infecções pelo *P. malariae*. Na fêmea do anofelino, os gametócitos serão diferenciados em masculinos (microgameta) e feminino (macrogameta). Ocorrerá a fecundação e o zigoto (ocineto) ficará localizado no intestino médio do inseto. Inicia-se um processo de reprodução esporogônica, e após um período de 14 dias, ocorre a ruptura da parede do oocisto, sendo liberados os esporozoítos, os quais caminharão pela hemolinfa até as glândulas salivares do inseto (BRAGA & FONTES, 2002). O ciclo esquizogônico do *Plasmodium* está representado na Figura 1.

Apenas o ciclo eritrocítico assexuado é responsável pelas manifestações clínicas e patologia da malária. A passagem do parasito pelo fígado (ciclo exo-eritrocítico) não é patogênica e não determina sintomas. A destruição dos eritrócitos e conseqüente liberação dos parasitos e seus metabólitos na circulação provocam uma resposta do hospedeiro, determinando alterações morfológicas e funcionais observadas no indivíduo com malária. Os possíveis mecanismos determinantes das diferentes formas clínicas da doença baseiam-se fundamentalmente, na interação dos seguintes fenômenos patogênicos (BRAGA & FONTES, 2002):

- Destruição dos eritrócitos parasitados;
- Toxicidade resultante da liberação de citocinas;
- Sequestro dos eritrócitos parasitados na rede capilar, no caso específico de *P. falciparum*;
- Lesão capilar por deposição de imunocomplexos, no caso de *P. malariae*.

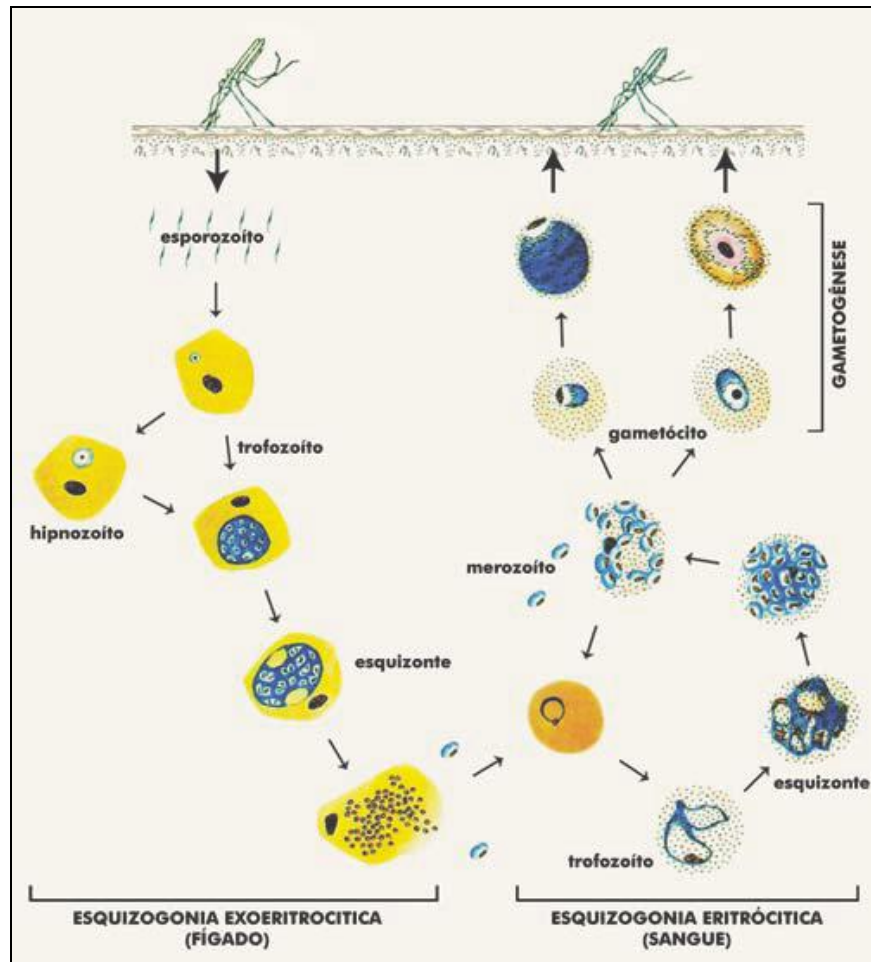


Figura 1 – Ciclo esquizogônico do *Plasmodium* (BRASIL, 2001)

O período de incubação de malária varia de acordo com a espécie de plasmódio, sendo de 8 a 12 dias para *P. falciparum*, 13 a 17 para *P. vivax* e 28 a 30 dias para *P. malariae*. Uma fase sintomática inicial, caracterizada por mal estar, cefaléia, cansaço e mialgia, geralmente precede a clássica febre da malária. Estes sintomas são comuns a muitas outras infecções, não permitindo um diagnóstico clínico seguro. O ataque paroxístico agudo (acesso malárico), coincidente com a ruptura das hemácias ao final da esquizogonia, é geralmente acompanhado de calafrio e sudorese. Esta fase dura de 15 minutos a uma hora, sendo seguida por uma fase febril, com temperatura corpórea podendo atingir 41 °C ou mais. Após um período de duas a

seis horas, ocorre defervescência e o paciente apresenta sudorese profusa e fraqueza intensa. Depois de algumas horas, os sintomas desaparecem e o paciente sente-se melhor (BRAGA & FONTES, 2002).

Após a fase inicial, a febre assume um caráter intermitente relacionado ao tempo de ruptura de uma quantidade suficiente de hemácias contendo esquizontes maduros. Portanto, a periodicidade dos sintomas está na dependência do tempo de duração dos ciclos eritrocíticos de cada espécie de plasmódio: 48 horas para *P. falciparum*, *P. vivax* e *P. ovale* (malária terçã) e 72 horas para *P. malariae* (malária quartã). Entretanto, a constatação desta regularidade é pouco comum nos dias atuais, em decorrência de tratamento precoce, realizado ainda na fase de assincronismo das esquizogonias sangüíneas. Desta forma, o padrão mais observado é o da febre cotidiana (BRAGA & FONTES, 2002).

3.1.3 Diagnóstico e tratamento

O diagnóstico da infecção malárica só é possível pela demonstração do parasito, ou de antígenos relacionados, no sangue periférico do paciente. No entanto, em virtude de seu padrão epidemiológico diverso, várias têm sido as abordagens diagnósticas da malária. A OMS, em suas orientações atuais para o controle da malária no mundo, preconiza tanto o diagnóstico clínico quanto o diagnóstico laboratorial como norteadores da terapêutica da doença (BRAGA & FONTES, 2002).

O elemento mais importante no diagnóstico clínico da malária, tanto nas áreas endêmicas como nas não endêmicas, é sempre cogitar a possibilidade da doença. Como a distribuição da malária não é homogênea, inclusive nos países onde sua prevalência é elevada, tornam-se importantes os fatores geográficos e os antecedentes de viagens que possam dar indicações sobre a exposição à doença. Além disso, deve-se considerar a possibilidade de malária induzida, em consequência de transfusões ou utilização de agulhas contaminadas. Ainda, deve-se distinguir a malária de outras doenças de quadro clínico semelhante presentes nos países malarígenos (OMS, 2000).

Em relação ao diagnóstico parasitológico, na maioria dos casos, as lâminas de sangue de gota espessa ou o exame de esfregaço revelam a presença dos parasitas de malária. O exame de gota espessa é mais útil que o esfregaço para detectar a parasitemia da malária,

particularmente quando esta for baixa. Os meios e equipamentos necessários para o exame microscópico de lâminas de sangue podem ser instalados facilmente em um local próximo a um centro de saúde ou a um hospital e as lâminas podem ser analisadas por pessoal treinado. Isso reduz o atraso ocasionado ao se enviar as amostras a um laboratório distante. Embora o custo ainda seja elevado, dispõe-se atualmente de novas provas diagnósticas rápidas. No entanto, elas não substituem o método padrão de microscopia para o diagnóstico da malária grave e o monitoramento do tratamento, por não permitirem a verificação da morfologia do parasita e do aspecto da lâmina (OMS, 2000).

No ano de 2006 foram realizados aproximadamente 3,4 milhões de exames para diagnóstico de malária, na Amazônia Legal. Esta região, compreendida pelos estados do Acre, Amazonas, Amapá, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Rondônia, Roraima e Tocantins, conta com 3209 unidades de diagnóstico, responsáveis também pelo fornecimento do tratamento imediato, como preconizado pela OMS (BRASIL, 2007; WHO, 2002).

O tratamento oportuno e eficaz da malária é provavelmente o elemento que tem a melhor relação custo/benefício nas estratégias de controle. A maior parte da terapia antimalárica no mundo é feita com medicamentos orais para malária causada por *P. falciparum*. O tratamento por via oral previne a progressão da doença, além de, se realizado a tempo e com eficácia, ser capaz de reduzir a sua morbidade e mortalidade. Entretanto, muitas pessoas que vivem em áreas endêmicas têm pouco ou nenhum acesso ao diagnóstico e tratamento, além disso, este último comumente é inadequado porque medicamentos de qualidade e eficazes não estão disponíveis para a população, ou, se estão, são ingeridos incorretamente (prescrição incorreta ou baixa adesão ao tratamento) ou são utilizados erroneamente (em pacientes que não possuem malária). Muitos países afetados pela malária incluem, em seus esquemas terapêuticos, fármacos que são parcialmente ou completamente ineficazes (GUERIN *et al.*, 2002).

Em várias áreas, a doença e o tratamento tendem a acontecer fora do setor de saúde formal e por isso não são incluídos nas estatísticas oficiais, ou seja, pouco se sabe sobre o comportamento das pessoas que procuram tratamento com malária sem complicações. Estes fatores influenciam a eficiência dos programas nacionais de controle da malária. A falha em prover tratamento imediato e eficaz aos pacientes com malária não complicada leva à malária severa. Quando as condições do paciente se deterioram, o tratamento oral não é mais possível,

sendo necessário o uso de medicamentos de uso retal ou injetáveis. Este atraso pode ser fatal (GUERIN *et al.*, 2002).

Em relação aos seus objetivos, o tratamento da malária visa à interrupção da esquizogonia sanguínea, responsável pela patogenia e manifestações clínicas da infecção. Entretanto, pela diversidade do seu ciclo biológico, é também objetivo da terapêutica proporcionar a erradicação de formas latentes do parasito no ciclo tecidual (hipnozoítas) das espécies *P. vivax* e *P. ovale*, evitando assim as recaídas tardias. Além disso, a abordagem terapêutica de pacientes residentes em áreas endêmicas pode visar também à interrupção da transmissão, pelo uso de fármacos que eliminam as formas sexuadas dos parasitos (BRAGA & FONTES, 2002).

O tratamento da infecção malárica é recomendado de acordo com a espécie de *Plasmodium* infectante. No Brasil, em 2006, 73,6% dos casos de malária registrados foram causados somente por *P. vivax*, 24,9% dos casos por *P. falciparum* e 1,5% dos casos foram infecções mistas (BRASIL, 2007).

Os esquemas de tratamentos adotados atualmente no país para as infecções causadas por *P. vivax* e *P. falciparum* estão resumidos nas tabelas 2 e 3. O esquema mostrado na Tabela 4 foi adotado para o tratamento de infecções por *P. falciparum* até o ano de 2006, permanecendo como 2ª escolha atualmente.

Tabela 2 – Esquema recomendado para tratamento das infecções por *Plasmodium vivax* com comprimidos de cloroquina 150 mg em três dias e primaquina (adulto 15 mg e infantil 5 mg) em sete dias (BRASIL, 2001)

Grupos etários	Fármacos e Doses								
	Cloroquina comprimido	1º dia		2º e 3º dias			4º ao 7º dias		
		Primaquina comprimido	Adulto	Infantil	Cloroquina comprimido	Primaquina comprimido	Adulto	Infantil	Adulto
< 6 meses	¼	-	-	¼	-	-	-	-	-
6 a 11 meses	½	-	1	½	-	1	-	-	1
1 a 2 anos	1	-	1	½	-	1	-	-	1
3 a 6 anos	1	-	2	1	-	2	-	-	2
7 a 11 anos	2	1	1	1 e ½	1	1	1	1	1
12 a 14 anos	3	1 e ½	-	2	1 e ½	-	1 e ½	-	-
15 ou mais	4	2	-	3	2	-	2	-	-

Tabela 3 – Esquema de 1ª escolha, recomendado para tratamento das infecções por *Plasmodium falciparum* com a associação de artemeter + lumefantrina (Coartem® 20 + 120 mg) em 3 dias (BRASIL, 2006)

Peso	Idade	Coartem® 20 + 120 mg					
		1º dia		2º dia		3º dia	
		Manhã	Noite	Manhã	Noite	Manhã	Noite
5 a 14 kg	6 meses a 2 anos	1	1	1	1	1	1
15 a 24 kg	3 a 8 anos	2	2	2	2	2	2
25 a 34 kg	9 a 14 anos	3	3	3	3	3	3
> 35 kg	> 14 anos	4	4	4	4	4	4

Tabela 4 – Esquema de segunda escolha recomendado para tratamento das infecções por *Plasmodium falciparum* com comprimidos de sulfato de quinina 500 mg em três dias, doxiciclina 100 mg em cinco dias e primaquina (adulto 15 mg, infantil 5 mg) no 6º. dia (BRASIL, 2001; BRASIL, 2006)

Grupos etários	Fármacos e doses			
	1º, 2º e 3º dias		4º e 5º dias	6º dia
	Quinina comprimido	Doxiciclina comprimido	Doxiciclina comprimido	Primaquina comprimido
8 a 11 anos	1 e ½	1	1	1
12 a 14 anos	2 e ½	1 e ½	1 e ½	2
15 ou mais anos	4	2	2	3

3.1.4 Determinantes da resistência do plasmódio aos antimaláricos

Vários fatores contribuem para o aparecimento e expansão da resistência do plasmódio aos medicamentos antimaláricos. Os fármacos antimaláricos mais comuns não são mutagênicos, mas mutações genéticas que conferem resistência do plasmódio a eles ocorrem na natureza. Embora a proporção natural destes mutantes na população de parasitas seja baixa, e amostras isoladas de populações e indivíduos mostrem heterogeneidade, a seleção dos parasitas mais “adequados” ocorre quando há pressão medicamentosa. Mutações únicas ou múltiplas no genoma do plasmódio podem conferir resistência frente à quimioterapia (WONGSRICHANALAI *et al.*, 2002).

As razões para o aparecimento e expansão da resistência aos fármacos envolve a interação dos padrões de uso dos medicamentos, características intrínsecas do fármaco, fatores relacionados ao hospedeiro (homem), e fatores ambientais do inseto vetor (WONGSRICHANALAI *et al.*, 2002).

As características dos fármacos são determinantes importantes da resistência. Primeiramente, fármacos com tempos longos de meia-vida de eliminação, como a mefloquina, podem exercer seleção residual em infecções novas contraídas após o tratamento da infecção primária, quando a droga persiste em concentrações subterapêuticas no plasma, especialmente em áreas com intensa transmissão de malária. Secundariamente, a manutenção de concentrações adequadas do fármaco por um tempo longo é necessária para a completa eliminação do parasita. Doses subterapêuticas eliminam os parasitas mais susceptíveis, deixando aqueles que conseguem se recuperar e reproduzir. Como resultado, a dose terapêutica necessária pode aumentar para valores além do máximo tolerado, demonstrando o aparecimento de resistência. Em terceiro lugar, o uso indiscriminado dos fármacos aumenta a pressão medicamentosa e serve de determinante na seleção de populações de parasitas resistentes (WONGSRICHANALAI *et al.*,2002). Recentemente, tem sido dada atenção à qualidade dos medicamentos nos programas de saúde, a fim de evitar que medicamentos de má qualidade e/ou falsos possam estar presentes e contribuam para o aparecimento de resistência.

As respostas imunes potentes aumentam a eficácia da quimioterapia. Um paciente semi-imune ainda pode ser curado por um medicamento, apesar de que os parasitas que carrega podem ser parcialmente resistentes aos fármacos. Um indivíduo que nunca foi exposto à malária apresenta uma resposta imune não específica que não é tão eficaz quanto aquela apresentada por um indivíduo submetido a infecções repetidas. Deste modo, o aparecimento de malária em populações não-imunes como refugiados ou migrantes aumenta a possibilidade de aparecimento e expansão da resistência, uma vez que parasitas com resistência baixa ou moderada seriam eliminados em populações semi-imunes (WONGSRICHANALAI *et al.*,2002).

O nível da transmissão influencia a taxa de aparecimento e expansão da resistência aos fármacos, mas o seu papel exato é complexo e provavelmente multifatorial. Acredita-se que o risco de desenvolvimento de resistência aos fármacos pode ocorrer tanto em áreas de baixa ou alta transmissão. Observou-se o aparecimento precoce de resistência em áreas de baixa transmissão (como Tailândia e Brasil). Como um exemplo da hipótese da resistência em áreas de alta transmissão, resistência total à cloroquina foi observada em dois anos e meio em uma área de alta transmissão no leste da África, a qual estava sob uma forte pressão medicamentosa (WONGSRICHANALAI *et al.*,2002)

Finalmente, o inseto vetor e fatores ambientais podem influenciar a proliferação de parasitas resistentes. Por exemplo, parasitas resistentes à cloroquina podem se reproduzir mais facilmente em certos anofelinos do que cepas não-resistentes (WONGSRICHANALAI *et al.*, 2002).

Assim, devido a estes fatores, a resistência do plasmódio aos antimaláricos foi demonstrada em vários países e numa velocidade crescente. Está relacionado na Tabela 5 o ano de introdução na terapêutica de alguns antimaláricos com o primeiro registro de resistência.

Tabela 5 – Antimaláricos: ano de introdução na terapêutica e ano da primeira notificação de resistência (WONGSRICHANALAI *et al.*, 2002)

<i>Antimalárico</i>	<i>Introdução</i>	<i>Primeira notificação de resistência</i>	<i>Diferença (anos)</i>
Quinina	1632	1910	278
Cloroquina	1945	1957	12
Proguanil	1948	1949	1
Sulfadoxina - pirimetamina	1967	1967	0
Mefloquina	1977	1982	5
Atovaquona	1996	1996	0

3.2 Os antimaláricos

De acordo com SWEETMAN (2005), os principais fármacos antimaláricos podem ser classificados de acordo com a fase do ciclo de vida do parasita que afetam:

- *Esquizonticidas sanguíneos* agem nos estágios eritrocíticos do parasita, responsáveis pelos sintomas clínicos da doença. Podem produzir uma cura clínica ou supressão da infecção por cepas suscetíveis das quatro espécies de plasmódio mas, não produzem uma cura radical das formas latentes das malárias vivax ou ovale;
- *Esquizonticidas teciduais* agem nos estágios exoeritrocíticos do parasita e são utilizados para profilaxia para prevenir a invasão das células sanguíneas, ou para promover a cura radical das malárias vivax e ovale;
- *Gametocitocidas* destroem as formas sexuadas do parasita para interromper a transmissão do homem para o inseto vetor;
- *Esporonticidas* não têm efeito direto sobre os gametócitos no hospedeiro, mas previnem a esporogonia no mosquito vetor.

Os fármacos antimaláricos podem também ser classificados de acordo com o grupo químico ao qual pertencem (Tabela 6).

Tabela 6 – Principais fármacos antimaláricos organizados por grupo químico (SWEETMAN, 2005)

<i>Grupo químico</i>	<i>Fármacos principais</i>	<i>Atividade</i>
	Alcalóides da cinchona	
4-Metanolquinolinas	Quinina Quinidina Mefloquina	Esquizonticidas sanguíneos de ação rápida. Atividade gametocitocida marginal Esquizonticida sanguíneo
4-Aminoquinolinas	Cloroquina Hidroxicloroquina Amodiaquina	Esquizonticidas sanguíneos de ação rápida. Atividade gametocitocida marginal
8-Aminoquinolinas	Primaquina Tafenoquina	Esquizonticidas teciduais. Apresentam atividade gametocitocida e agem em outras fases do ciclo de vida do parasita.
Biguanidas	Proguanil Chlorproguanil	Esquizonticidas teciduais e esquizonticidas sanguíneos de ação lenta. Atividade esporonticida marginal. Inibidores da diidrofolato redutase
Diaminopirimidinas	Pirimetamina	Esquizonticida tecidual e esquizonticida sanguíneo de ação lenta. Inibidor da diidrofolato redutase. Usualmente empregado em associação com fármacos que inibem diferentes estágios da síntese do folato, para ação sinérgica.
Diclorobenzilidinas	Lumefantrina	Esquizonticida sanguíneo
Hidroxinaftoquinonas	Atovaquona	Esquizonticida sanguíneo. Usualmente empregado em combinação com proguanil
9-Fenantrenometanóis	Halofantrina	Esquizonticida sanguíneo
Lactonas sesquiterpênicas	Artemisinina e seus derivados	Esquizonticidas sanguíneos
Sulfonamidas	Sulfadoxina Sulfametopirazina	Esquizonticidas sanguíneos. Inibidores da síntese do diidropteroato e do folato. Usualmente empregados em combinação com pirimetamina.
Tetraciclina	Doxiciclina Tetraciclina	Esquizonticidas sanguíneos. Atividade esquizonticida tecidual marginal.
Lincosamidas	Clindamicina	Esquizonticidas sanguíneos. Atividade esquizonticida tecidual marginal
Sulfonas	Dapsona	Esquizonticida sanguíneo. Inibidor da síntese do folato. Usualmente empregado em combinação com pirimetamina.

As fórmulas estruturais de alguns dos fármacos relacionados na Tabela 6 são apresentadas na Figura 2, e na Figura 3 é relacionado o ciclo de vida do parasita com os alvos de ação dos fármacos.

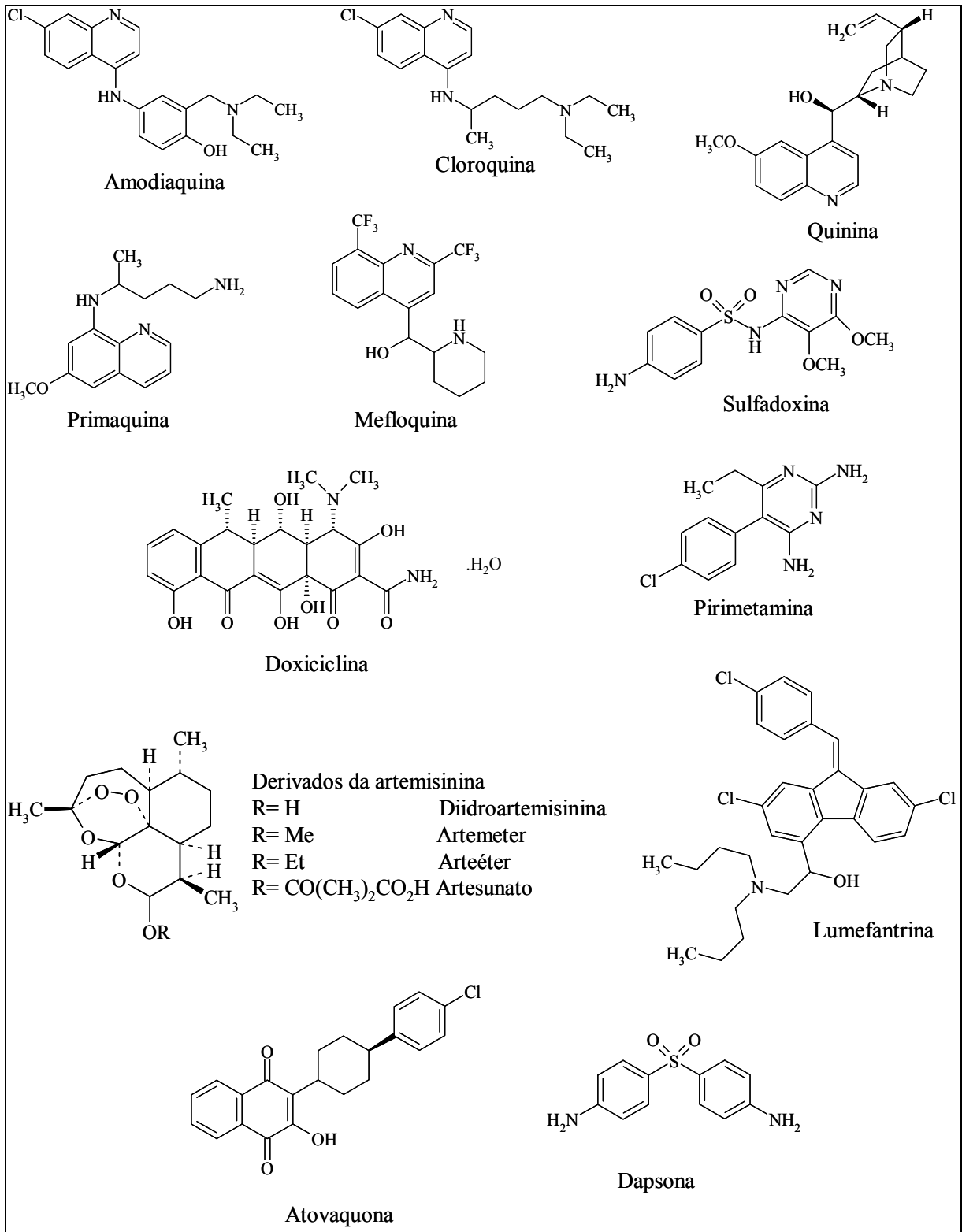


Figura 2 – Fórmulas estruturais de fármacos utilizados no tratamento de malária

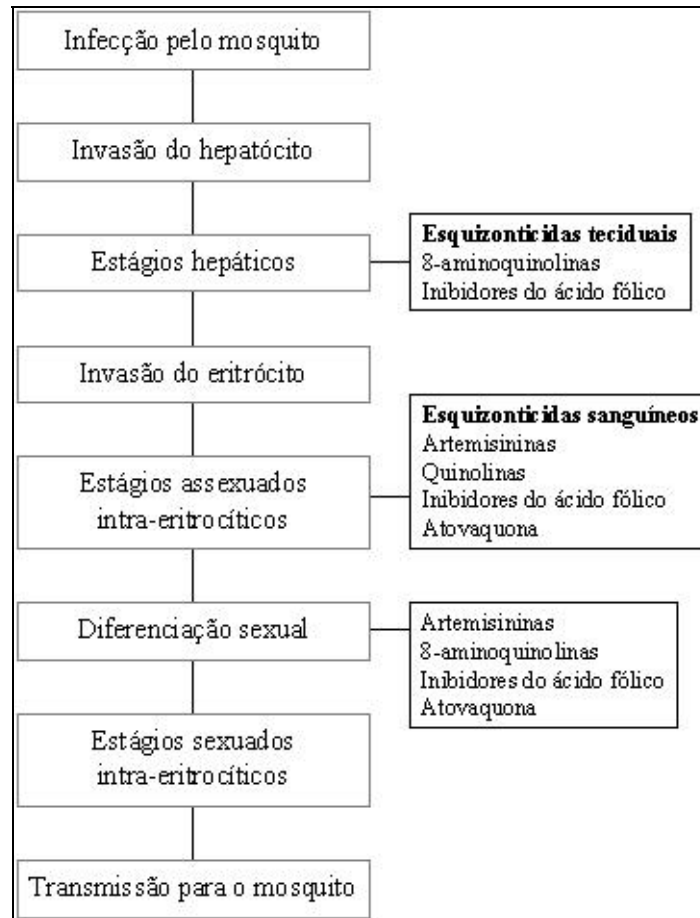


Figura 3 – Representação esquemática do ciclo biológico dos plasmódios e indicação dos alvos de ação dos antimaláricos (GUERIN *et al.*, 2002)

O mecanismo de ação dos antimaláricos é um tema que ainda causa controvérsia. Várias são as teorias sobre como estes fármacos agem no parasita, como pode ser encontrado na literatura (FOLLEY & TILLEY, 1998; LI, 2006; RIDLEY, 2002).

Uma descrição detalhada dos antimaláricos que serão objeto de estudo neste trabalho será dada nas seções a seguir.

3.2.1 Sulfato de quinina

O uso medicinal da quinina data de mais de 350 anos. A quinina é o principal alcalóide da cinchona, a casca da árvore sul-americana também conhecida como quina, casca do jesuíta ou do cardeal. Em 1633, um monge agostiniano denominado Calancha, de Lima, Peru escreveu pela primeira vez sobre o poder da cinchona que “dada de beber cura febres e terçãs”. Em 1640, a cinchona foi utilizada para tratar febres na Europa, fato mencionado pela primeira vez

na literatura médica européia em 1643. Os padres jesuítas eram os principais importadores e distribuidores da cinchona na Europa, daí o nome de casca jesuíta. A cinchona também era chamada de casca do cardeal porque foi subvencionada em Roma pelo eminente filósofo Cardeal de Lugo. No entanto, a comunidade médica demorou a aceitar a cinchona, retardando seu conhecimento oficial até 1677, quando foi incluída na London Pharmacopoeia como “Cortex Peruanus” (TRACY & WEBSTER, 2003).

Durante quase dois séculos a casca foi utilizada pela medicina como pó, extrato ou infusão. Em 1820, Pelletier e Caventou isolaram a quinina e a cinchonina da cinchona, e o uso dos alcalóides foi rapidamente favorecido. A quinina, associada a fármacos antimaláricos antifolatos secundários ou antibióticos, ainda é hoje o fundamento do tratamento das crises de malária *falciparum* resistente à cloroquina e multirresistente. No entanto, a terapia com outros antimaláricos pode suplantiar os esquemas de sete dias da quinina devido à resistência crescente do *P. falciparum* à quinina, além da toxicidade desta (TRACY & WEBSTER, 2003).

O sulfato de quinina (Figura 4), quimicamente o sulfato de (8 α ,9R)-6'-metoxicinchonan-9-ol diidratado, apresenta fórmula molecular (C₂₀H₂₄N₂O₂)₂.H₂SO₄.2H₂O e massa molar de 782,96 g/mol. Apresenta-se na forma de agulhas ou bastões, formando uma massa leve e facilmente compressível, se tornando marrom com a exposição à luz. O sulfato de quinina perde a água de cristalização em temperatura de aproximadamente 100 °C. Um grama do sulfato de quinina se dissolve em 810 ml de água, 32 ml de água fervente, 120 ml de etanol, sendo facilmente solúvel (1: 1 a 10 partes) em uma mistura de clorofórmio e etanol absoluto (2:1) e pouco solúvel (1 : 100 a 1000 partes) em clorofórmio e éter. As soluções aquosas de sulfato de quinina são neutras ao papel de tornassol e o pH da solução saturada é 6,2 (THE MERCK, 2006). A quinina apresenta valores de pK_a para os ácidos conjugados de 4,2 e 8,5 (FOYE *et al.*, 1995).

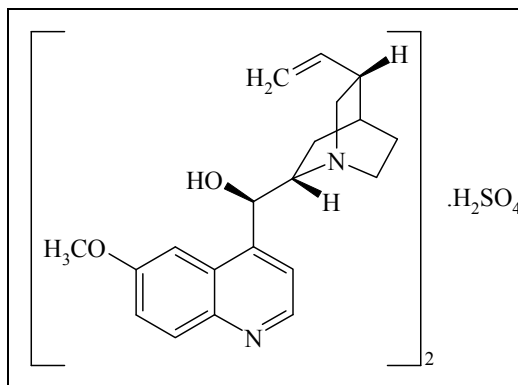


Figura 4 – Fórmula estrutural do sulfato de quinina

A farmacocinética da quinina é alterada significativamente pela infecção malárica, sendo os maiores efeitos a redução no volume aparente de distribuição e da depuração. A quinina é absorvida rapidamente e quase completamente do trato gastrointestinal, e as concentrações plasmáticas máximas são atingidas em 1 a 3 horas após a administração. A ligação a proteínas plasmáticas é de aproximadamente 70% em indivíduos saudáveis, podendo aumentar para 90% em indivíduos com malária. A quinina é amplamente distribuída no organismo. A concentração no líquido cérebro-espinhal de pacientes com malária cerebral é de 2 a 7% daquela do plasma, aproximadamente. A quinina é extensamente metabolizada no fígado e excretada principalmente na urina. Estimativas da proporção de quinina excretada inalterada na urina variam de menos de 5% a 20%. A excreção é aumentada com a acidez da urina. A meia vida de eliminação é de aproximadamente 11 horas em indivíduos saudáveis, podendo ser aumentada em pacientes com malária. Pequenas quantidades de quinina também aparecem na bile e na saliva. A quinina atravessa a barreira placentária e é distribuída para o leite materno (SWEETMAN, 2005).

Quando o regime terapêutico é corretamente empregado, a quinina é um fármaco relativamente seguro, porém, em doses altas pode causar alterações visuais, arritmias, hipotensão e convulsões. Reações de hipersensibilidade são raras e incluem *rash* cutâneo, trombocitopenia, leucopenia, coagulopatia intravascular disseminada, síndrome urêmica-hemolítica, broncoespasmo e pancitopenia. Em contraste, uma toxicidade sintomática é normal em pacientes conscientes (tinnitus, surdez, dor de cabeça, náusea e distúrbios visuais) não necessitando de redução de dose. Quinina parece ser um fármaco seguro quando usado na gravidez (WINSTANLEY, 2001).

Em relação aos métodos analíticos para o controle de qualidade de sulfato de quinina, estão disponíveis monografias para matéria prima na Farmacopéia Internacional 4ª edição (THE INTERNATIONAL, 2006) e Européia 6ª edição (THE EUROPEAN, 2007); para matéria prima e comprimidos estão disponíveis monografias nas farmacopéias Americana 30ª edição (THE UNITED, 2006) e Britânica 2007 (BRITISH, 2007).

3.2.2 Difosfato de cloroquina

A cloroquina é uma representante de um grande grupo de 4-aminoquinolinas pesquisadas como parte de um amplo programa de cooperação de pesquisa antimalárica nos EUA durante a Segunda Guerra Mundial. Desde 1943, milhares destes compostos foram sintetizados e tiveram sua atividade testada. A cloroquina acabou se mostrando mais promissora e foi liberada para os testes de campo. Ao final do conflito, foi descoberto que o composto tinha sido sintetizado e estudado com o nome de resochin pelos alemães já em 1934 (TRACY & WEBSTER, 2003).

Quimicamente, o difosfato de cloroquina (Figura 5) é o difosfato de *N*⁴-(7-cloro-4-quinolinil)-*N*¹, *N*¹-dietil-1,4-pentanodiamina, com fórmula molecular C₁₈H₂₆ClN₃.2H₃PO₄ e massa molar de 515,86 g/mol. Fisicamente, apresenta-se como cristais incolores de sabor amargo, com duas formas polimórficas: uma com faixa de fusão entre 193 e 195 °C e a outra com faixa de fusão entre 215 e 218 °C. O difosfato de cloroquina é facilmente solúvel em água (1 : 1 a 10 partes), sendo menos solúvel em pH neutro ou alcalino. É praticamente insolúvel (1: mais de 10000 partes) em benzeno, clorofórmio, etanol e éter. O valor de pH de uma solução a 1% (p/V) é 4,5. O difosfato de cloroquina é estável ao calor em soluções de pH 4,0 a 6,5 (THE MERCK, 2006). Os valores de pK_a para os ácidos conjugados da cloroquina são 8,1 e 9,9 (FOYE *et al.*, 1995).

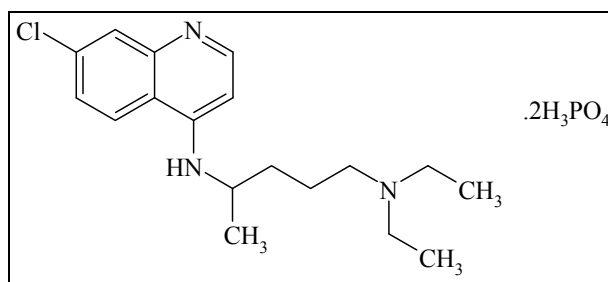


Figura 5 – Fórmula estrutural do difosfato de cloroquina

Quando utilizada por via oral, a cloroquina é absorvida rapidamente e quase completamente do trato gastrointestinal. A absorção também é rápida após a administração intramuscular ou subcutânea. O fármaco é amplamente distribuído para os tecidos corporais tendo um grande volume de distribuição. É acumulado nos rins, fígado, pulmões e baço, ligando-se fortemente a células que contenham melanina, como as dos olhos e pele. A cloroquina é capaz de atravessar a barreira placentária. A eliminação da cloroquina é muito lenta, podendo persistir nos tecidos por meses ou até anos após o término da utilização. A cloroquina é extensamente metabolizada no fígado, sendo a monodesetilcloroquina o seu metabólito principal, formando também quantidades menores de bisdesetilcloroquina e outros metabólitos. Há relatos de que a monodesetilcloroquina seja ativa contra o *Plasmodium falciparum*. Aproximadamente metade da dose de cloroquina é excretada inalterada na urina e cerca de 10% da dose é excretada como monodesetilcloroquina. A cloroquina e a monodesetilcloroquina são distribuídas para o leite materno (SWEETMAN, 2005).

A cloroquina geralmente é bem tolerada, porém, em altas concentrações, pode provocar prurido em indivíduos de pele negra, particularmente quando é administrada em infusões endovenosas. Efeitos menores e reversíveis são: vertigem, dor de cabeça, diplopia (visão dupla), distúrbio de acomodação, disfagia, náusea e mal estar. Em altas concentrações podem ocorrer efeitos adversos mais sérios, como hipotensão e anormalidades no eletrocardiograma. Efeitos adversos raros incluem: fotosensibilidade, agravamento da psoríase, pigmentação da pele, leucopenia, embranquecimento dos cabelos, e anemia aplástica. A cloroquina pode exacerbar a epilepsia (WINSTANLEY, 2001).

Estão disponíveis nas farmacopéias Americana 30ª edição (THE UNITED, 2006), Britânica 2007 (BRITISH, 2007) e Internacional (THE INTERNATIONAL, 2006), monografias para a avaliação da qualidade de difosfato de cloroquina matéria prima e em comprimidos. A Farmacopéia Européia 6ª edição (THE EUROPEAN, 2007) dispõe de monografia para difosfato de cloroquina matéria prima apenas.

3.2.3 Difosfato de primaquina

A fraca atividade plasmodicida do azul de metileno, descoberto por Ehrlich em 1891, foi posteriormente explorada para desenvolver os antimaláricos 8-aminoquinolínicos. Dentre uma grande quantidade de derivados de quinolina sintetizados com substituições nos grupos

metoxi e 8-amino, a pamaquina foi a primeira a ser introduzida na medicina. Durante a Segunda Guerra Mundial, a pesquisa de antimaláricos 8-aminoquinolínicos mais potentes e menos tóxicos levou à seleção da pentaquina, isopentaquina e primaquina para maiores avaliações, compostos que, ao contrário dos outros antimaláricos, agem nos estágios tissulares (exo-eritrocítos) do *P. vivax* e *P. ovale* para evitar e curar a malária recidivante. Apenas a primaquina, exaustivamente testada durante a Guerra da Coréia, é amplamente utilizada hoje (TRACY & WEBSTER, 2003).

O nome químico do difosfato de primaquina (Figura 6) é difosfato de *N*⁴-(6-metoxi-8-quinolinil)-1,4-pentanodiamina, sua fórmula molecular é $C_{15}H_{21}N_3O \cdot 2H_3PO_4$ e a massa molar é de 455,34 g/mol. O difosfato de primaquina apresenta-se como cristais amarelos, com faixa de fusão entre 197 e 198 °C, sendo solúvel (1: 10 a 30 partes) em água (THE MERCK, 2006).

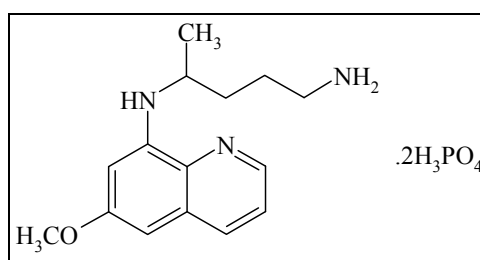


Figura 6 – Fórmula estrutural do difosfato de primaquina

A primaquina é prontamente absorvida do trato gastrointestinal. Concentrações plasmáticas máximas são atingidas em aproximadamente 1 a 2 horas após a ingestão e diminuem rapidamente, com um tempo de meia vida de eliminação de 3 a 6 horas. A primaquina é extensamente distribuída para os tecidos corporais. A primaquina é rapidamente metabolizada no fígado, sendo o seu principal metabólito a carboxiprimaquina, e uma pequena quantidade do fármaco inalterado é excretado na urina. A carboxiprimaquina se acumula no plasma após administrações repetidas (SWEETMAN, 2005).

O tratamento com primaquina normalmente começa com o da cloroquina já terminado, quando o paciente está se recuperando. Normalmente bem tolerada, a primaquina pode causar hemólise intravascular em pacientes com deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (mais severamente em populações com variações mediterrâneas ou asiáticas desta deficiência), um problema que limita sua utilidade, especialmente no continente Asiático (WINSTANLEY, 2001). Reações adversas com o uso de primaquina por pacientes

com deficiência de glicose-6-fosfato-desidrogenase foram também relatados no Brasil (SILVA *et al.*, 2004).

O controle de qualidade de difosfato de primaquina matéria prima e em comprimidos pode ser realizado segundo métodos oficiais disponíveis nas farmacopéias Brasileira 4ª edição (FARMACOPÉIA, 2000), Americana 30ª edição (THE UNITED, 2006), Britânica 2007 (BRITISH, 2007) e Internacional (THE INTERNATIONAL, 2006). Está descrita na Farmacopéia Européia 6ª edição (THE EUROPEAN, 2007) monografia para difosfato de primaquina matéria prima.

3.2.4 Cloridrato de mefloquina

A mefloquina é um produto do Programa de Pesquisa da Malária estabelecido em 1963 pelo *Walter Reed Institute for Medical Research* para desenvolver novos compostos promissores no combate de cepas emergentes de *P. falciparum* resistente aos medicamentos. Dentre os vários 4-quinolona metanóis testados com base em sua semelhança estrutural com a quinina, a mefloquina apresentou grande atividade antimalárica em modelos animais e emergiu dos ensaios clínicos como segura e altamente eficaz contra cepas de *P. falciparum* resistentes aos demais medicamentos. A mefloquina foi utilizada pela primeira vez para se tratar a malária *falciparum* resistente à cloroquina na Tailândia, onde foi formulada com pirimetamina-sulfadoxina para retardar o desenvolvimento de parasitos resistentes aos medicamentos. A estratégia falhou, em grande parte porque a eliminação lenta da mefloquina estimulou a seleção de parasitos resistentes em concentrações subterapêuticas do fármaco. A mefloquina é atualmente recomendada para uso oral exclusivamente na profilaxia e na quimioterapia da malária *falciparum* resistente à cloroquina ou multi-resistente. Essa quinolona é mais eficaz para tratar a malária *falciparum* sem complicações com resistência aos medicamentos quando administrada 48 h após a carga parasitária ter sido significativamente reduzida pela administração de um antimalárico artemisinínico (TRACY & WEBSTER, 2003).

O cloridrato de mefloquina (Figura 7), quimicamente, é o cloridrato de (α S)-rel- α -(2R)-piperidinil-2,8-bis(trifluorometil)-4-quinolinametanol, com fórmula molecular $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$ e massa molar de 414,77 g/mol. Apresenta-se como um pó branco, inodoro, de faixa de fusão entre 259 e 260 °C com decomposição, solúvel em etanol e acetato de etila e pouco solúvel em água. A solução metanólica de cloridrato de mefloquina apresenta

máximos de absorção em 222, 283, 304 e 318 nm, com valores de absorvidade específica de 46700, 6600, 4000 e 3100 (THE MERCK, 2006).

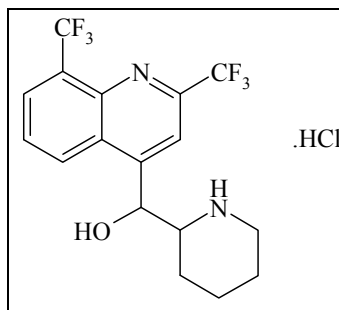


Figura 7 – Fórmula estrutural do cloridrato de mefloquina

A farmacocinética da mefloquina pode estar alterada pela infecção malárica de uma maneira similar às alterações da farmacocinética da quinina, sendo os efeitos mais pronunciados as reduções no volume de distribuição e na depuração. A mefloquina é bem absorvida pelo trato gastrointestinal, mas há uma clara variação individual no tempo necessário para alcançar a concentração plasmática máxima. A mefloquina é aproximadamente 98% ligada a proteínas plasmáticas e altas concentrações foram reportadas em células sanguíneas da série vermelha. A mefloquina é extensamente distribuída no organismo. Em alguns pacientes foi relatado que a meia-vida de eliminação da mefloquina é de 21 dias, embora os valores encontrados sejam variáveis em outros estudos. Concentrações subterapêuticas de mefloquina persistem na circulação por vários meses. A mefloquina é metabolizada no fígado, sendo uma pequena parte excretada na urina. Estudos em animais sugerem que a excreção da mefloquina seja feita principalmente na bile e nas fezes. Uma pequena quantidade de mefloquina é distribuída para o leite materno (SWEETMAN, 2005).

Reações adversas idiossincrásicas severas são raras, porém incluem reações ameaçadoras à vida como reações de pele e anemia aplásica. Em contraste, é comum o aparecimento de reações adversas dose-dependentes como distúrbios gastrointestinais e vertigem, sendo mais sérias reações como psicoses, convulsões, e encefalopatia aguda. Deve-se preocupar com o risco de cardiotoxicidade em pacientes que receberam quinina logo após o tratamento com mefloquina (como é comum no sudoeste da Ásia) (WINSTANLEY, 2001).

Os códigos internacionais como as farmacopéias Americana 30ª edição (THE UNITED, 2006), Britânica 2007 (BRITISH, 2007) Européia 6ª edição (THE EUROPEAN, 2007) e

Internacional (THE INTERNATIONAL, 2006) trazem monografias apenas para o controle de qualidade de cloridrato de mefloquina matéria-prima. Na literatura científica, são encontrados vários métodos que se utilizam da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a determinação do fármaco em comprimidos e em meios biológicos, como sumarizado na Tabela 7. Também na literatura, foi encontrado um método para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos, por espectrofotometria no ultravioleta descrito por RAO & MURTHY (2002) que foi utilizado, no presente trabalho, na avaliação da qualidade deste antimalárico em comprimidos.

Tabela 7 – Métodos analíticos utilizando CLAE para a determinação de cloridrato de mefloquina matéria-prima, em comprimidos e em líquidos biológicos

Referência	Matriz	Fase Móvel	Fase Estacionária	Deteção
GRINDEL <i>et al.</i> , 1977	Plasma e	Éter isopropílico:dioxano:ácido acético (3:2 v/v + 0,5%)	μBondapak CN 300 x 4 mm	UV; 280 nm
	Sangue			
	Urina	0,1 M NaH ₂ PO ₄ / Metanol (2:3)	μBondapak C18 300 x 4 mm 10 μm	UV; 280 nm
QIU <i>et al.</i> , 1992	Comprimido	Hexano / Etanol / Dietilamina (96:4:0,1%)	Chiralpak AD 250 x 4,6 mm 10 μm	UV; 285 nm
TAYLOR <i>et al.</i> , 1992	Plasma	Tampão fosfato 0,02 M pH 2,5:Acetonitrila (50:50)	C18 100 x 4,6 mm; C18 100 x 2 mm 3,5 μm	UV; 254 nm
GREEN <i>et al.</i> , 1999	Plasma, Soro e Sangue	0,1 M K ₂ HPO ₄ / Acetonitrila (60:40) pH 6,0	SymmetryShield RP18 250 x 4,6 mm.	UV; 222 nm
TONNESEN <i>et al.</i> , 1997	Matéria-prima e	0,045M KH ₂ PO ₄ / Acetonitrila (69:31) pH 3,4	Nova-Pak C18 150 x 3,9 mm	UV; 315 nm
TONNESEN, H.H., 1999	comprimido			
GAUDIANO <i>et al.</i> , 2006	Comprimido	0,05 M KH ₂ PO ₄ 1,22 g pentanossulfonato de sódio, 1ml de trietilamina e pH 2,9 : acetonitrila (gradiente)	Symmetry C18, 75 × 4.6 mm d.i., 3.5 μm	UV; 230 nm

Em relação aos trabalhos para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos citados na Tabela 7, convém destacar que o trabalho de QIU e colaboradores (1992) destinou-se a quantificar os isômeros de mefloquina e que os trabalhos desenvolvidos por TONNESEN e colaboradores (1997 e 1999) destinaram-se a estudar a fotoestabilidade do cloridrato de mefloquina no estado sólido e em meio aquoso e o método aqui citado serviu para a quantificação do fármaco nestes estudos. Preciosas informações sobre a fotoestabilidade do cloridrato de mefloquina estão descritas nestes artigos, porém, informações como a representação do cromatograma ou dados da validação do método estão ausentes. Foi relatado

no trabalho de GAUDIANO e colaboradores o desenvolvimento de um método por CLAE utilizando a eluição em gradiente para quantificar a cloroquina, quinina e mefloquina em comprimidos.

3.3 Avaliações da qualidade de medicamentos antimaláricos

Muitos são os prejuízos do uso de medicamentos falsos e/ou de má qualidade. O escândalo dos medicamentos falsos no Brasil em 1998 levou ao endurecimento das leis em relação à falsificação de medicamentos, à criação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e à conscientização da população sobre a existência e o risco do uso destes produtos, colocando no centro das discussões do País a qualidade dos medicamentos. Naquela época, foi estimado que 10% da produção farmacêutica anual do Brasil era roubada ou falsificada (CSILLAG, 1998).

Na literatura científica são encontrados vários estudos relatando avaliações da qualidade dos medicamentos, principalmente daqueles utilizados para o tratamento de infecções, como antibióticos e antimaláricos (Tabela 8). Em alguns casos, como os relatados por PETRALANDA (1995), KRON (1996) e BASCO e colaboradores (1997), a observação de falha no tratamento levou à desconfiança sobre a qualidade dos medicamentos utilizados e o posterior envio destes para análises de controle de qualidade. Em outros casos, amostras de medicamentos foram obtidas no comércio local, hospitais, unidades de saúde e analisadas em laboratórios de controle de qualidade, como os estudos relatados por TAYLOR e colaboradores em 1995 e 2001 e, mais recentemente, por SYHAKHANG em 2004. Outros estudos relatam a aquisição de medicamentos no comércio local e o posterior estudo de sua estabilidade em condições tropicais simuladas (temperatura de 40 °C e umidade relativa de 75%, por períodos de até 6 meses), como os descritos por RISHA e colaboradores em 2002 e KAYUMBA e colaboradores em 2004, ou mantidos em áreas tropicais por até dois anos para o estudo da estabilidade *in situ* (BALLEREAU *et al.*, 1997). Ainda, algumas destas avaliações são realizadas com o auxílio de testes rápidos, de baixo custo e fácil execução, adaptados para o uso em regiões com recursos limitados, como as acometidas pela malária. Podem ser citados os testes os descritos por GREEN e colaboradores (2000; 2007) e os métodos de análise dos GPHF Minilabs[®] desenvolvidos pela Fundação Farmacêutica Global

para a Saúde (GPHF, 2007), utilizados nos estudos conduzidos por NEWTON e colaboradores (2001) e LON e colaboradores (2006), respectivamente.

A qualidade dos medicamentos também deve ser considerada antes da decisão de mudar os esquemas de tratamento de um país. Deve-se investigar a extensão real da resistência aos medicamentos que pode estar relacionada à sua qualidade (BASCO *et al.*, 1997). Isto é importante quando se tem um arsenal terapêutico limitado, como o da malária.

Tabela 8 – Avaliações da qualidade de medicamentos antimaláricos

<i>Referência</i>	<i>País(es)</i>	<i>Antimaláricos analisados</i>	<i>Resultados</i>
PETRALANDA , 1995	Venezuela	Primaquina	50% das amostras em desacordo
TAYLOR <i>et al.</i> , 1995	Nigéria	Cloroquina	40% das amostras de comprimidos, 20% das de xarope e 1 amostra de injetável em desacordo
SHAKOOR <i>et al.</i> , 1997	Nigéria e Tailândia	Cloroquina	30% das amostras em desacordo
NEWTON <i>et al.</i> , 2001	Laos, Vietnam, Camboja, Tailândia e Mianmar	Artesunato	38% das amostras não continham o princípio ativo
TAYLOR <i>et al.</i> , 2001	Nigéria	Cloroquina, Proguanil, Quinina, Sulfadoxina-Pirimetamina (SDX-PIR)	42% das amostras em desacordo
RISHA <i>et al.</i> , 2002	Tanzânia	Cloroquina e SDX-PIR	Decréscimo da cedência no teste de dissolução após 6 meses em condições tropicais simuladas
MINZI <i>et al.</i> , 2003	Tanzânia	Amodiaquina e SDX-PIR	36% das amostras em desacordo
KAYUMBA <i>et al.</i> , 2004	Ruanda e Tanzânia	Quinina e SDX-PIR	Decréscimo da cedência no teste de dissolução após 6 meses em condições tropicais simuladas.
SYHAKHANG <i>et al.</i> , 2004	Lao	Cloroquina	49,5 e 41,5% das amostras em desacordo.
LON <i>et al.</i> , 2006	Camboja	Artesunato, cloroquina, mefloquina, quinina e tetraciclina	28,6% das amostras em desacordo com os testes rápidos do GPHF Minilab (GPHF, 2007).

4 CAPÍTULO I: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE ANTIMALÁRICOS NO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE - SUS

4.1 Materiais e Métodos

4.1.1 Materiais

4.1.1.1 Substâncias químicas de referência e amostras

Estão relacionadas na Tabela 9 as substâncias químicas de referência (SQR) utilizadas na avaliação da qualidade dos antimaláricos.

Tabela 9 – Relação das substâncias químicas de referência (SQR) utilizadas na avaliação da qualidade dos antimaláricos e respectivas marcas, números de lote, validade e pureza.

<i>SQR</i>	<i>Marca</i>	<i>Lote</i>	<i>Validade</i>	<i>Pureza</i>
Cinchonidina	Aldrich	S28339	Indeterminada	99,4%
Cloridrato de mefloquina	USP	F0E165	Indeterminada	100,0%
Difosfato de cloroquina	USP	I	Indeterminada	100,0%
Difosfato de primaquina	USP	F-1	Indeterminada	100,0%
Diidroquinina	Aldrich	06616MA	Indeterminada	97,9%
Quininona	USP	H0B034	Indeterminada	100,0%
Sulfanilamida	USP	O0B047	Indeterminada	100,0%
Sulfato de Quinina	USP	I0E071	Indeterminada	98,4%

As amostras utilizadas na avaliação da qualidade dos antimaláricos estão relacionadas na Tabela 10.

Tabela 10 – Relação dos medicamentos utilizados na avaliação da qualidade dos antimaláricos e respectivos números de lote, datas de fabricação e validade.

<i>Medicamentos</i>	<i>Lote</i>	<i>Data de Fabricação</i>	<i>Data de Validade</i>
Difosfato de cloroquina comprimidos (150 mg de cloroquina base)	05030650	03/2005	03/2007
Cloridrato de mefloquina comprimidos (250 mg de mefloquina base)	0503023	03/2005	03/2008
Difosfato de primaquina comprimidos (15 mg de primaquina base)	04071297	07/2004	07/2006
Sulfato de quinina 500 mg comprimidos	05001022	01/2005	01/2008
	05004103	04/2005	04/2008

Para a realização e verificação da adequabilidade do método espectrofotométrico de determinação de teor de cloridrato de mefloquina em comprimidos foi utilizada a matéria prima fabricada pela CrossChem lote 8700/02/04, com pureza de 98,7% como tal e comprimidos de cloridrato de mefloquina lote 0409022 com validade até setembro de 2007.

4.1.1.2 Reagentes e vidraria

- Solventes e reagentes grau analítico: acetona, ácido acético, ácido clorídrico, ácido metanossulfônico, ácido perclórico, ácido sulfúrico, anidrido acético, clorofórmio, dietilamina, hidróxido de amônio, nitrato de prata, nitrito de sódio.
- Solventes e reagentes grau HPLC: metanol, 1-pentanossulfonato de sódio.
- Água destilada e água ultra-pura.
- Pipetas e balões volumétricos calibrados.
- Béqueres, erlenmeyers e kit de filtração.
- Cromatofolhas de alumínio TLC de sílica gel 60 F₂₅₄ MERCK
- Membrana de celulose regenerada SARTORIUS com diâmetro de 47 mm e porosidade de 0,45 µm.
- Dispositivos filtrantes de celulose regenerada MINISART 15 mm x 0,45 µm.

4.1.1.3 Equipamentos

- Aparelho de ultra-som UNIQUE 1400.
- Aparelho para teste de desintegração ERWEKA ZT3.
- Aparelho para teste de dissolução ERWEKA DT80.
- Balança analítica SARTORIUS com precisão de 0,01 mg modelo BP210D.
- Coluna cromatográfica Cromolith MERCK C₁₈, 100 x 4,6 mm, monolítica.
- Coluna cromatográfica Xterra WATERS C₁₈, 250 x 4,6 mm, 5 µm.
- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência HEWLETT PACKARD 1100 e AGILENT 1200 equipados com desgaseificador, bomba quaternária, forno de colunas, injetor automático e detector de arranjo de diodos (DAD) na região do ultravioleta e visível.
- Durômetro ERWEKA TB 24.
- Eletrodo de pH METTLER-TOLEDO DM 113-SC
- Eletrodo de platina METTLER-TOLEDO DM 140-SC

- Espectrofotômetro de absorção no ultravioleta-visível SHIMADZU UV-160A.
- Espectrofotômetro de absorção no ultravioleta-visível HEWLETT PACKARD 8453.
- Estufa FANEM Orion 515.
- Friabilômetro ERWEKA TA3R.
- Lâmpada UV SPECTROLINE ENF-240C com cabine SPECTROLINE CM-10.
- Pipetas automáticas calibradas BRAND TRANSFERPETTE.
- Potenciômetro METROHM 827 pH Lab.
- Sistema de purificação de água MILIPORE MILLI-Q-PLUS.
- Titulador automático METTLER TOLEDO DL53

4.1.2 Métodos

4.1.2.1 Desenho do estudo

A proposta do presente estudo foi avaliar a qualidade de medicamentos antimaláricos após 5 meses de permanência em uma região quente e úmida em comparação com aqueles mantidos na região onde foram produzidos. Para tanto, amostras de comprimidos dos quatro lotes de medicamentos antimaláricos relacionados na Tabela 10 foram levadas e armazenadas em 9 locais na região Norte do Brasil: três almoxarifados estaduais e duas localidades em cada um dos três estados. Para permitir a comparação entre os resultados, amostras de comprimidos dos mesmos antimaláricos permaneceram no almoxarifado central na cidade do Rio de Janeiro, denominado Central Nacional de Armazenagem e Distribuição de Insumos (CENADI). O CENADI será identificado como local A, e os estados participantes como B, C e D. Os almoxarifados estaduais serão identificados como B_{ES}, C_{ES} e D_{ES} e, por conseguinte, as localidades serão denominadas B₁, B₂, C₁, C₂, D₁ e D₂. Os nomes reais dos estados e localidades participantes deste estudo serão mantidos em sigilo. Após o período de tempo mencionado, os mesmos locais foram visitados para o recolhimento e codificação das amostras, que foram levadas para o Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos e Cosméticos da Faculdade de Farmácia da UFMG (LCQ-FAFAR/UFMG) onde foram realizados os ensaios físico-químicos.

4.1.2.2 Escolha dos locais participantes

Os locais participantes deste estudo foram selecionados por seus valores de Incidência Parasitária Anual (IPA), porcentagem resultados positivos das lâminas de verificação de cura (LVC) acima da média do estado e ausência de ar condicionado nas Unidades Básicas de Saúde (UBS) nas localidades.

O IPA corresponde à quantidade de lâminas positivas dividido pela população sob risco e multiplicado por uma constante, geralmente 1000. As cidades selecionadas para participarem neste estudo, à exceção do Rio de Janeiro (RJ), estão localizadas em áreas com alto risco (IPA ≥ 50 lâminas positivas / 1000 habitantes) e médio risco (IPA entre 10 e 49 lâminas positivas / 1000 habitantes) de contrair malária (BRASIL, 2004).

As lâminas de verificação de cura (LVC) são exames para diagnóstico de malária realizados após o término do tratamento do paciente. Um resultado positivo em uma LVC indica a persistência da infecção, devendo o tratamento ser repetido. As cidades da Região Norte selecionadas para participarem deste estudo apresentavam porcentagem de LVC positiva acima da média do estado a que pertenciam (BRASIL, 2002)

4.1.2.3 Visita aos locais participantes e entrega das amostras do estudo

Ao final do mês de Maio de 2005, foi cumprido o roteiro de viagem aos locais de armazenamento de medicamentos e entrega das amostras do estudo. Em cada local participante do estudo foram deixadas amostras contendo 100 comprimidos de cloroquina, mefloquina, primaquina e quinina (Tabela 10), do mesmo lote, o que só não foi possível com as amostras de quinina, originadas de dois lotes diferentes. As amostras de comprimidos de quinina do lote final 1022 foram armazenadas nas regiões A, B e D e aquelas do lote final 4103 foram armazenadas nas regiões A e C.

Visando auxiliar a descrição dos locais visitados, foi elaborado um questionário com base na RDC no. 35/2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, (BRASIL, 2003a) e no guia de armazenagem da OMS (SNOW, 2003). Este questionário (Anexo I) foi aplicado aos responsáveis de cada localidade visitada. Os locais participantes e as amostras foram também fotografados. Os responsáveis de cada local foram conscientizados da importância

das amostras permanecerem armazenadas da mesma maneira que os outros medicamentos e que estas não fossem dispensadas à população. Para evitar o desabastecimento e a conseqüente perda das amostras do estudo, uma quantidade adicional de medicamentos foi levada aos locais visitados.

Amostras dos mesmos lotes daqueles utilizados no estudo tiveram sua permanência solicitada ao CENADI, estado do Rio de Janeiro, para servirem de referência na comparação dos resultados.

4.1.2.4 Recolhimento das amostras do estudo

Ao final do mês de Outubro de 2005, foi realizada nova visita aos mesmos locais descritos em 4.1.2.1 para recolhimento das amostras, as quais foram trazidas a Belo Horizonte para o seguimento do estudo. Também foi visitado o CENADI (região A), para recolhimento das amostras que lá permaneceram.

As amostras foram codificadas e examinadas quanto a desvios de qualidade presentes nos materiais de embalagem. Aquelas que apresentaram problemas neste quesito foram também fotografadas.

4.1.2.5 Controle de qualidade de comprimidos de difosfato de cloroquina

Primeiramente, foi observado o aspecto das amostras após o recolhimento. Em seguida, foram realizados os seguintes testes físicos de acordo com os métodos gerais descritos na Farmacopéia Brasileira 4ª edição – F.Bras.IV (FARMACOPÉIA, 1988): determinação de peso em formas farmacêuticas (método geral V.1.1), dureza (V.1.3.1), friabilidade (V.1.3.2) e desintegração (V.1.4.1).

Para a realização do teste de determinação de peso em formas farmacêuticas foram pesados 20 comprimidos individualmente e calculou-se o peso médio e os desvios individuais em relação ao peso médio. Para comprimidos, pode-se tolerar não mais que duas unidades fora dos limites especificados na Tabela 11, em relação ao peso médio, porém nenhuma unidade poderá estar acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas.

Tabela 11 – Limites de aceitação de comprimidos no teste de determinação de peso em formas farmacêuticas (FARMACOPÉIA, 1988)

<i>Forma farmacêutica</i>	<i>Peso médio</i>	<i>Limites de variação</i>
Comprimidos, núcleos para drágeas,	até 80,0 mg	± 10,0%
comprimidos efervescentes, comprimidos	entre 80,0 e 250,0 mg	± 7,5%
sublinguais, comprimidos vaginais e pastilhas	acima de 250,0 mg	± 5,0%

No teste de dureza, 10 comprimidos foram submetidos individualmente à força diametral aplicada por um durômetro, sendo que o valor mínimo estabelecido pela F.Bras.IV é de 3 kgf.

Já no teste de friabilidade, 20 comprimidos foram pesados em conjunto e submetidos à rotação de 20 rpm por 5 minutos em um friabilômetro. Ao fim do teste, os comprimidos foram limpos com um pincel macio para retirada dos resíduos de poeira e pesados novamente. Foi calculada a porcentagem de pó perdido. O valor máximo aceito pela F.Bras.IV é de 1,5%. O teste de desintegração foi realizado com 6 comprimidos. O meio de desintegração utilizado foi água destilada, mantida a 37 °C. Foi medido o tempo necessário para que todos os comprimidos estivessem desintegrados, sendo que o máximo permitido pela F.Bras.IV é de 30 minutos.

Após a realização dos testes físicos, seguiu-se com os ensaios de identificação, teste de dissolução, determinação do teor e uniformidade de doses unitárias, conforme monografia individual para comprimidos de difosfato de cloroquina da Farmacopéia Americana 28ª edição (THE UNITED, 2004).

Para o teste de identificação, foi preparada uma solução contendo o equivalente a 10 µg/ml de difosfato de cloroquina pela diluição de 0,5 ml da solução aquosa da amostra do doseamento em 100 ml de água. Foram traçados os espectros na região do ultravioleta entre 400 nm e 200 nm desta solução e de uma solução padrão com concentração equivalente. Os espectros devem ser concordantes e a razão entre as absorvâncias medidas em 343 nm e 329 nm deve estar compreendida entre 1,00 e 1,15.

O teste de dissolução foi realizado utilizando-se as condições descritas na Tabela 12.

Tabela 12 – Condições do teste de dissolução para comprimidos de difosfato de cloroquina

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Meio de dissolução	Água destilada; 900 ml
Aparelhagem	Pás
Rotação	100 rpm
Tempo de coleta	45 minutos
Comprimento de onda de leitura	343 nm
Solução padrão	0,0210 mg/ml de difosfato de cloroquina SQR em água
Solução amostra	Após o teste, filtrar e diluir 2 ml para 25 ml em água. Concentração teórica de 0,0215 mg/ml de difosfato de cloroquina.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro utilizando-se água destilada para ajuste do zero. Os cálculos foram feitos levando-se em conta a concentração do padrão e sua leitura e a concentração teórica da amostra, bem como os valores de absorvância obtidos.

Segundo a Farmacopéia Americana 28ª edição, os comprimidos de difosfato de cloroquina devem apresentar quantidade dissolvida (Q) superior a 75% em 45 minutos. Os critérios de aceitação utilizados foram aqueles descritos no método geral V.1.5 da F.Bras.IV (Tabela 13):

Tabela 13 – Critérios de aceitação para o teste de dissolução, segundo a F.Bras.IV

<i>Estágio</i>	<i>No. de unidades testadas</i>	<i>Critério de Aceitação</i>
E ₁	06	Cada unidade apresenta resultados maiores ou iguais a Q + 5%
E ₂	06	Média de 12 unidades (E ₁ + E ₂) é igual ou maior do que Q e nenhuma unidade apresenta resultados inferiores a Q – 15%
E ₃	12	Média de 24 unidades (E ₁ + E ₂ + E ₃) é igual ou maior do que Q e não mais que 2 unidades apresentam resultados inferiores a Q – 15%

A determinação de teor foi realizada por espectrofotometria de absorção no ultravioleta utilizando o comprimento de onda de 343 nm. Foram pesados e pulverizados 20 comprimidos e uma quantidade do pó equivalente a 200 mg de difosfato de cloroquina foi transferida para balão volumétrico de 100 ml. Acrescentou-se 70 ml de água e o balão foi levado a banho de ultra-som por 10 minutos, seguido de agitação mecânica por 10 minutos adicionais. Filtrou-se, descartando os primeiros 25 ml do filtrado. Transferiram-se 50 ml do filtrado para funil de separação e foram acrescentados 5 ml de solução de hidróxido de amônio 6 mol/l. Prosseguiu-se com a extração com 4 porções de 25 ml de clorofórmio. As camadas clorofórmicas foram reunidas e lavadas com 10 ml de água e esta camada aquosa foi lavada também com 10 ml de

clorofórmio. Seguiu-se com a evaporação em banho maria da parte clorofórmica reunida em um béquer até que o volume fosse reduzido a aproximadamente 10 ml. Em seguida foram acrescentados 50 ml de uma solução 1:250 (V/V) de ácido clorídrico em água e a evaporação prosseguiu até que os odores de clorofórmio não fossem mais perceptíveis. O líquido foi transferido para balão volumétrico de 200 ml e o volume foi completado com uma solução 1:1000 (V/V) de ácido clorídrico. Deste balão foram pipetados 2 ml e transferiu-se para balão volumétrico de 100 ml e o volume foi completado com o mesmo solvente. Esta última solução, com concentração teórica de 0,01 mg/ml de difosfato de cloroquina foi levada ao espectrofotômetro para leitura. Este procedimento foi realizado em duplicata.

A solução padrão foi preparada pesando-se exatamente cerca de 16 mg de difosfato de cloroquina SQR em um balão volumétrico de 100 ml. Foi acrescentado cerca de 70 ml de ácido clorídrico 1:1000 (V/V) e levado a banho de ultra-som por 10 minutos. O volume foi completado com o mesmo solvente. Foram pipetados 3 ml desta solução e transferiu-se para balão volumétrico de 50 ml e o volume foi completado com ácido clorídrico 1:1000 (V/V). A solução padrão na concentração de 0,0096 mg/ml de difosfato de cloroquina também foi preparada em duplicata.

Os cálculos foram realizados a partir das leituras obtidas com as soluções diluídas. Foi utilizado ácido clorídrico 1:1000 (V/V) para ajuste do zero. A Farmacopéia Americana 28ª edição especifica que o teor dos comprimidos deve estar compreendido entre 93,0% e 107,0% do valor rotulado de difosfato de cloroquina.

O teste de uniformidade de doses unitárias foi realizado pelo método de variação de peso utilizando-se o valor encontrado na determinação de teor, os pesos individuais das 10 primeiras unidades do teste de determinação de peso e o valor de peso médio obtido no mesmo teste. Os valores encontrados devem estar na faixa de 85,0% a 115,0% do valor rotulado e o desvio padrão relativo (DPR) à média deve ser inferior a 6,0% (FARMACOPÉIA, 1996).

4.1.2.6 Controle de qualidade de comprimidos de cloridrato de mefloquina

A determinação de teor de cloridrato de mefloquina nos comprimidos foi realizada utilizando-se uma adaptação do método descrito por RAO & MURTHY em 2002. Para que este método fosse utilizado, foi necessário avaliar parâmetros como linearidade, precisão e exatidão, segundo as normas do International Conference on Harmonization - ICH (INTERNATIONAL..., 2005) e da RE 899/2003 da ANVISA (BRASIL, 2003c). O teste de dissolução foi realizado conforme condições enviadas pela Organização Pan-Americana da Saúde – OPAS e a linearidade do método para a determinação de cedência foi avaliada segundo os critérios do ICH.

4.1.2.6.1 Linearidade do método espectrofotométrico para determinação de cloridrato de mefloquina

A linearidade foi avaliada tanto para o método de determinação de teor quanto para o método de determinação de cedência no teste de dissolução.

Para a determinação de teor, foi preparada uma solução estoque pesando-se cerca de 25 mg de cloridrato de mefloquina SQR e transferindo para balão volumétrico de 50 ml. O volume foi completado com metanol. Com o auxílio de uma bureta de 10 ml, foram transferidas alíquotas de 1,0; 1,5; 2,0; 2,5 e 3,0 ml da solução estoque para balões volumétricos de 25 ml, sendo os volumes completados também com metanol. Cada nível de concentração foi preparado em triplicata, totalizando 15 soluções. Estas soluções diluídas correspondem a, respectivamente, 50%, 75%, 100%, 125% e 150% da concentração de trabalho (0,04 mg/ml).

Para a determinação da linearidade para a determinação da cedência no teste de dissolução foi preparada uma solução estoque pesando-se cerca de 25 mg de cloridrato de mefloquina SQR e transferindo para balão volumétrico de 100 ml. Foram acrescentados 10 ml de metanol para facilitar a solubilização e depois o volume foi completado com ácido clorídrico 0,1 mol/l. Com auxílio de uma bureta de 10 ml, foram transferidas alíquotas de 2,0; 3,0; 4,0; 6,0 e 8,0 ml da solução estoque para balões volumétricos de 25 ml e o volume foi completado com ácido clorídrico 0,1 mol/l, correspondendo a 33%, 50%, 66%, 100% e 133% da cedência esperada (0,06 mg/ml), respectivamente. As soluções foram preparadas em triplicata, totalizando 15 soluções.

As absorvâncias das soluções diluídas foram medidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 283 nm, utilizando-se metanol e ácido clorídrico 0,1 mol/l para ajuste do zero para as determinações de teor e cedência, respectivamente. As curvas analíticas foram construídas com os dados obtidos. Os gráficos foram analisados visualmente, a regressão linear foi calculada pelo método dos mínimos quadrados utilizando-se o software GraphPad Prism versão 4.0 (2005, GraphPad Software Inc.). Foram avaliados o coeficiente de determinação (R^2), o intercepto com o eixo Y e a distribuição dos resíduos.

4.1.2.6.2 Precisão intra-ensaio e precisão inter-ensaios

A determinação da precisão intra-ensaio foi realizada com 6 determinações de uma mesma amostra, que foram preparadas triturando-se 20 comprimidos e determinando-se o peso médio. Transferiu-se quantidade do pó equivalente a 100 mg de cloridrato de mefloquina para balão volumétrico de 100 ml e foram adicionados cerca de 70 ml de metanol. Levou-se o balão a banho de ultra-som por 10 minutos e o volume foi completado com metanol (concentração teórica de 0,04 mg/ml de cloridrato de mefloquina). A solução foi filtrada e uma alíquota de 4 ml foi transferida para balão volumétrico de 100 ml e o volume foi completado com metanol. Foram realizadas 6 pesagens para a determinação da precisão.

A solução padrão, na concentração de 0,04 mg/ml, foi preparada em duplicata pesando-se cerca de 20 mg de cloridrato de mefloquina SQR e transferindo para balão volumétrico de 100 ml. Completou-se o volume com metanol. Tomou-se uma alíquota de 5 ml desta solução e transferiu-se para outro balão volumétrico de 25 ml e completou-se o volume com o mesmo solvente.

As absorvâncias das soluções diluídas foram determinadas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 283 nm, utilizando-se metanol para ajuste do zero.

A precisão inter-ensaios foi determinada pela repetição deste procedimento no dia seguinte. Os resultados foram agrupados e calculou-se o desvio padrão relativo (DPR) das 12 determinações.

4.1.2.6.3 Exatidão

A determinação da exatidão foi feita em soluções de amostra fortificadas pela adição de padrão. A solução padrão foi preparada da mesma maneira que aquela descrita em 4.1.2.6.2.

Foram pesados e pulverizados 20 comprimidos. A solução amostra a 0,024 mg/ml foi preparada pesando-se o pó dos comprimidos equivalente a cerca de 60 mg de cloridrato de mefloquina e transferindo-se para balão volumétrico de 100 ml. Foram acrescentados cerca de 70 ml de metanol e levado a banho de ultra-som por 10 minutos. O volume foi completado com o mesmo solvente e a solução foi filtrada. Transferiram-se 4 ml do filtrado para balão de 100 ml, completando-se o volume com metanol. Esta solução corresponde à amostra sem adição de padrão, contendo cloridrato de mefloquina correspondente a 60% da concentração de trabalho.

A solução fortificada 1, correspondendo a 0,032 mg/ml (80% da concentração de trabalho), foi preparada pesando-se o pó dos comprimidos equivalente a 60 mg de cloridrato de mefloquina e transferindo-se para balão volumétrico de 100 ml. Foram pesados cerca de 20 mg de cloridrato de mefloquina SQR e transferiu-se para o mesmo balão. Adicionou-se cerca de 70 ml de metanol, levou-se a banho de ultra-som por 10 minutos e o volume foi completado com metanol. A solução foi filtrada e do filtrado foi retirada uma alíquota de 4 ml para balão de 100 ml e o volume foi completado com metanol.

A solução fortificada 2, correspondendo a 0,040 mg/ml (100% da concentração de trabalho), foi preparada pesando-se o pó dos comprimidos equivalente a 60 mg de cloridrato de mefloquina e transferindo-se para balão volumétrico de 100 ml. Foram pesados cerca de 40 mg de cloridrato de mefloquina SQR e transferiu-se para o mesmo balão. Adicionou-se cerca de 70 ml de metanol, levou-se a banho de ultra-som por 10 minutos e o volume foi completado com metanol. A solução foi filtrada e do filtrado foi retirada uma alíquota de 4 ml para balão de 100 ml e o volume foi completado com metanol.

A solução fortificada 3, correspondendo a 0,048 mg/ml (120% da concentração de trabalho), foi preparada pesando-se o pó dos comprimidos equivalente a 60 mg de cloridrato de mefloquina e transferindo-se para balão volumétrico de 100 ml. Foram pesados cerca de 60 mg de cloridrato de mefloquina SQR e transferiu-se para o mesmo balão. Adicionou-se cerca

de 70 ml de metanol, levou-se a banho de ultra-som por 10 minutos e o volume foi completado com metanol. A solução foi filtrada e do filtrado foi retirada uma alíquota de 4 ml para balão de 100 ml e o volume foi completado com metanol.

As absorvâncias das soluções fortificadas diluídas foram medidas em espectrofotômetro no comprimento de onda de 283 nm, utilizando-se metanol para ajuste do zero. As porcentagens de recuperação foram calculadas dividindo-se a concentração real de cloridrato de mefloquina medida pela concentração teórica da solução fortificada e multiplicando-se o resultado por 100.

4.1.2.6.4 Ensaios de controle de qualidade para comprimidos de cloridrato de mefloquina

Os comprimidos de mefloquina foram submetidos aos mesmos testes físicos aplicados aos comprimidos de cloroquina: determinação de peso em formas farmacêuticas, dureza, friabilidade e desintegração. Os critérios de aceitação foram aqueles já descritos em 4.1.2.5.

O teste de identificação foi realizado traçando-se um espectro na região do ultravioleta, entre 200 e 350 nm, utilizando as soluções amostra e padrão do doseamento. Os espectros foram comparados, devendo ser similares entre si e com o descrito na literatura (RAO & MURTHY, 2002).

Foi realizado também um teste de identificação para o cloreto presente na molécula de cloridrato de mefloquina. Para isso, 5 gotas de solução de hidróxido de amônio 6 mol/l foram acrescentadas a uma quantidade do pó dos comprimidos equivalente a 250 mg de cloridrato de mefloquina. Foram acrescentados 50 ml de água e homogeneizou-se. A mistura foi filtrada em papel de filtro faixa azul e ao filtrado foram adicionadas gotas de solução de nitrato de prata 0,25 mol/l. A ocorrência de precipitado branco caseoso, insolúvel em ácido nítrico, mas solúvel em ligeiro excesso de hidróxido de amônio 6 mol/l caracteriza a identificação positiva do íon cloreto.

O teste de dissolução foi realizado nas condições descritas na Tabela 14.

Tabela 14 – Condições do teste de dissolução para comprimidos de cloridrato de mefloquina

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Meio de dissolução	Ácido clorídrico 0,1 mol/l; 900 ml
Aparelhagem	Pás
Rotação	100 rpm
Tempo de coleta	60 minutos
Comprimento de onda de leitura	283 nm
Solução padrão	0,060 mg/ml de cloridrato de mefloquina SQR em HCl 0,1 mol/l.
Solução amostra	Após o teste, diluir 5 ml para 25 ml em água. Concentração teórica de 0,061 mg/ml de cloridrato de mefloquina.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro a 283 nm utilizando-se ácido clorídrico 0,1 mol/l para ajuste do zero. Os cálculos foram feitos levando-se em conta a concentração do padrão e sua leitura e a concentração teórica da amostra, bem como os valores lidos.

A especificação utilizada da quantidade de cloridrato de mefloquina que deve estar dissolvida foi a mesma que para comprimidos de cloroquina e quinina: mínimo 75% (Q) dissolvido em 60 minutos. Os critérios de aceitação foram os descritos na Tabela 13.

O teste de determinação de teor foi realizado por espectrofotometria na região do ultravioleta, no comprimento de onda de 283 nm, segundo método validado anteriormente. A solução amostra foi preparada pesando-se o equivalente a 100 mg de cloridrato de mefloquina em balão volumétrico de 100 ml. Acrescentou-se cerca de 70 ml de metanol e levou-se o balão a banho de ultra-som por 10 minutos. O volume foi completado com metanol e filtrou-se. Transferiu-se 2 ml do filtrado para balão volumétrico de 50 ml e o volume foi completado com metanol. Esta solução, com concentração teórica de 0,04 mg/ml de cloridrato de mefloquina, foi utilizada para leitura no espectrofotômetro.

A solução padrão foi preparada pesando-se cerca de 20 mg de cloridrato de mefloquina SQR em balão volumétrico de 100 ml. Acrescentou-se cerca de 70 ml de metanol, levou-se a banho de ultra-som por 10 minutos e o volume foi completado com metanol. Transferiu-se 5 ml desta solução para balão volumétrico de 25 ml e completou-se o volume com metanol. Esta solução, a 0,04 mg/ml de cloridrato de mefloquina, foi utilizada para leitura no espectrofotômetro.

A quantidade de cloridrato de mefloquina presente nos comprimidos foi calculada a partir das leituras obtidas. Os limites de especificação adotados foram de 90,0% a 110,0% do valor rotulado de cloridrato de mefloquina.

O teste de uniformidade de doses unitárias foi realizado pelo método da variação de peso, da mesma forma que para os comprimidos de cloroquina (FARMACOPÉIA, 1996).

4.1.2.7 Controle de qualidade de comprimidos de difosfato de primaquina

Os comprimidos de primaquina foram submetidos aos mesmos testes físicos que os de cloroquina e mefloquina, sendo adotados os mesmos critérios de aceitação.

A identificação de difosfato de primaquina nos comprimidos foi feita por cromatografia em camada delgada (CCD) utilizando a metodologia descrita nos manuais dos GHPF – Minilabs (JAHNKE *et al.*, 2004). As condições do teste estão descritas na Tabela 15. Adicionalmente, foi feita a comparação dos tempos de retenção e dos espectros na região do ultravioleta obtidos com os picos de primaquina (amostras e padrão) nas análises por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos - DAD.

Tabela 15 – Condições cromatográficas para o teste de identificação de primaquina por CCD em comprimidos segundo os manuais do GHPF Minilab (JAHNKE *et al.*, 2004)

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Solução padrão	Solução a 1,0 mg/ml de primaquina em água
Solução amostra	Solução contendo o equivalente a 1,0 mg/ml de primaquina em água obtida a partir do pó dos comprimidos.
Volume de aplicação	2 µl
Eluente	Acetato de etila: Metanol: Amônia (5:20:0,5)
Visualização das manchas	Luz UV 254 nm e observação visual após 2h

Os ensaios de dissolução, determinação do teor e uniformidade de doses unitárias foram realizados conforme monografia individual para comprimidos de difosfato de primaquina da Farmacopéia Americana 28ª edição (THE UNITED, 2004). Para a determinação da cedência no teste de dissolução e de teor no teste de uniformidade de conteúdo foi utilizada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com as condições descritas na Tabela 16.

Tabela 16 – Condições cromatográficas para a determinação de cedência no teste de dissolução e teor no teste de uniformidade de conteúdo para comprimidos de difosfato de primaquina

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Solução de 1-pentanossulfonato de sódio	Pesar 961 mg de pentanossulfonato de sódio, acrescentar 1 ml de ácido acético e dissolver em 400 ml de água
Fase móvel	Solução de 1-pentanossulfonato : Metanol (40:60)
Fluxo da fase móvel	2 ml/min
Volume de injeção	20 µl
Coluna	Cromolith®, C ₁₈ 100 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno; monolítica.
Temperatura da coluna	30 °C
Comprimento de onda de leitura	254 nm
Adequabilidade do sistema	DPR das áreas dos picos de primaquina inferior a 3,0%

O teste de uniformidade de doses unitárias foi realizado pelo método da uniformidade de conteúdo devido à pequena quantidade de difosfato de primaquina nos comprimidos em relação ao seu peso médio, segundo critérios da F.Bras. IV (FARMACOPÉIA, 1996). Deste modo, foi determinado o teor individual de 10 comprimidos, sendo que os valores devem estar na faixa de 85,0% a 115,0% do valor rotulado e o desvio padrão relativo à média dos teores deve ser inferior a 6,0%.

As soluções amostra para o teste de uniformidade de conteúdo foram preparadas pesando-se individualmente 10 comprimidos e transferindo-os para balões volumétricos de 100 ml. Acrescentou-se cerca de 70 ml de ácido clorídrico 0,01 mol/l e os balões foram levados a banho de ultra-som por 10 minutos até que os comprimidos estivessem desintegrados. Completou-se o volume com ácido clorídrico 0,01 mol/l e filtrou-se, descartando-se os primeiros 10 ml do filtrado. Transferiram-se 5 ml de cada filtrado para balões volumétricos de 50 ml e o volume foi completado com o mesmo solvente. Estas soluções foram filtradas e colocadas em *vials* para injeção no cromatógrafo. A concentração final das soluções amostra é aproximadamente 0,026 mg/ml de difosfato de primaquina.

A solução padrão foi preparada pesando-se exatamente cerca de 22 mg de difosfato de primaquina SQR e transferindo-se para balão volumétrico de 100 ml. Foram acrescentados cerca de 70 ml de ácido clorídrico 0,01 mol/l e o balão foi levado a banho de ultra-som por 10 minutos. O volume foi completado com o mesmo solvente. Transferiram-se 3 ml desta

solução para balão volumétrico de 25 ml e o volume foi completado com o mesmo solvente. Esta solução foi filtrada e colocada em *vial* para injeção no cromatógrafo. A concentração final da solução padrão é aproximadamente 0,026 mg/ml de difosfato de primaquina. As condições cromatográficas utilizadas estão descritas na Tabela 16.

O teste de dissolução foi realizado conforme as condições descritas na Tabela 17. A determinação da cedência foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência, com as mesmas condições cromatográficas já descritas.

Tabela 17 – Condições do teste de dissolução para comprimidos de difosfato de primaquina

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Meio de dissolução	HCl 0,01 mol/l, 900 ml
Aparelhagem	Pás
Rotação	50 rpm
Tempo de coleta	60 minutos
Comprimento de onda de leitura	254 nm
Solução padrão	0,030 mg/ml de difosfato de primaquina SQR em HCl 0,01 mol/l.
Solução amostra	Após o teste, filtrar e utilizar sem diluição. Concentração teórica de 0,029 mg/ml de difosfato de primaquina.

O cálculo da cedência foi realizado utilizando-se os valores de área obtidos para o pico de primaquina das soluções padrão e amostra, bem como a concentração do padrão e a teórica das amostras. No mínimo 80% (Q) do valor rotulado de difosfato de primaquina deve estar dissolvido em 60 minutos.

A determinação do teor de difosfato de primaquina nos comprimidos foi realizada por volumetria de oxi-redução com nitrito de sódio 0,1 mol/l.

Primeiramente, foi necessário preparar e padronizar a solução titulante. Esta foi preparada pela dissolução de 7,5 g de nitrito de sódio em 1000 ml de água destilada. Para a padronização foi utilizada sulfanilamida SQR dessecada a 105 °C por 3 horas. Em triplicata, pesou-se cerca de 100 mg de sulfanilamida SQR, acrescentaram-se 5 ml de ácido clorídrico concentrado e 50 ml de água destilada. A solução foi colocada em banho de gelo até que atingisse temperatura inferior a 15 °C, quando então foi levada ao titulador automático, com determinação

potenciométrica do ponto final da titulação. Cada mililitro da solução de nitrito de sódio 0,1 mol/l equivale a 17,22 mg de sulfanilamida SQR.

Para a determinação do teor, foram triturados 25 comprimidos. Pesou-se quantidade do pó equivalente a 200 mg de difosfato de primaquina e acrescentaram-se cerca de 50 ml de água destilada e 10 ml de ácido clorídrico concentrado. A solução foi mantida em banho de gelo até que atingisse temperatura inferior a 15 °C e levada, em seguida, ao titulador automático. O ponto final da titulação foi determinado potenciometricamente. Cada ml da solução de nitrito de sódio 0,1 mol/l é equivalente a 45,53 mg de difosfato de primaquina. Os limites de especificação para a determinação de teor são entre 93,0% e 107,0% de difosfato de primaquina em relação ao valor rotulado.

4.1.2.8 Controle de qualidade de comprimidos de sulfato de quinina

Assim como os demais produtos analisados, os comprimidos de sulfato de quinina também foram submetidos aos testes físicos de determinação de peso em formas farmacêuticas, dureza, friabilidade e desintegração já descritos, devendo cumprir com as mesmas especificações.

Os ensaios de identificação, dissolução, substâncias relacionadas e determinação de teor foram realizados conforme monografia para sulfato de quinina comprimidos constante na Farmacopéia Americana 28ª edição (THE UNITED, 2004).

A identificação de quinina foi realizada pesando-se o pó dos comprimidos equivalente a 50 mg de sulfato de quinina e dissolvendo-se em 100 ml de uma solução de ácido sulfúrico 1:350 (V/V). Esta mistura foi filtrada, devendo o filtrado apresentar fluorescência azul sob lâmpada UV, no comprimento de onda de 365 nm, cessando com a adição de gotas de ácido clorídrico concentrado.

O teste de pureza cromatográfica foi realizado nas condições descritas na Tabela 18.

Tabela 18 – Condições do teste pureza cromatográfica para comprimidos de sulfato de quinina

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Solução padrão	6 mg/ml de sulfato de quinina SQR em etanol:água 1:1 (V/V)
Solução padrão diluída	0,06 mg/ml de sulfato de quinina SQR em etanol:água 1:1 (V/V)
Solução de substâncias relacionadas	0,05 mg/ml de cinchonidina e 0,10 mg/ml de quininona SQR em etanol:água 1:1 (V/V)
Solução amostra	Equivalente a 6 mg/ml de sulfato de quinina em etanol:água 1:1 (V/V)
Eluente	Clorofórmio:acetona:dietilamina 5:4:1 (V/V)
Visualização das manchas	Luz UV 365 nm

A cuba cromatográfica foi utilizada sem equilíbrio prévio. A placa foi retirada quando o eluente atingiu aproximadamente 15 cm, e então foi levada à visualização sob lâmpada UV. As manchas secundárias presentes na solução amostra não devem ser mais intensas que as correspondentes da solução de substâncias relacionadas, máximo de 0,83% de cinchonidina e 1,67% de quininona. Outras manchas secundárias presentes na solução amostra não devem ser mais intensas que a mancha principal da solução padrão diluída, máximo de 1%. Para o teste de identificação, as manchas principais das soluções amostra e padrão devem corresponder em posição e coloração.

O teste de dissolução foi realizado nos comprimidos de sulfato de quinina conforme as condições descritas na Tabela 19.

Tabela 19 – Condições do teste de dissolução para comprimidos de sulfato de quinina

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Meio de dissolução	Ácido clorídrico 0,01 mol/l, 900 ml
Aparelhagem	Cestas
Rotação	100 rpm
Tempo de coleta	45 minutos
Comprimento de onda de leitura	248 nm
Solução padrão	0,012 mg/ml de sulfato de quinina SQR em HCl 0,01 mol/l.
Solução amostra	Após o teste, diluir 2 ml para 100 ml em água. Concentração teórica de 0,011 mg/ml de sulfato de quinina.

As leituras foram realizadas em espectrofotômetro utilizando-se ácido clorídrico 0,01 mol/l para ajuste do zero. Os cálculos foram feitos levando-se em conta a concentração do padrão e

sua leitura e a concentração teórica da amostra, bem como os valores lidos. No mínimo 75% (Q) de sulfato de quinina devem estar dissolvidos em 45 minutos.

A determinação de teor de sulfato de quinina nos comprimidos por cromatografia líquida de alta eficiência foi realizada nas condições descritas na Tabela 20.

Tabela 20 – Condições cromatográficas para a determinação de teor de sulfato de quinina em comprimidos

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Solução de ácido metanossulfônico	Transferir 35 ml de ácido metanossulfônico e 20 ml de ácido acético glacial para balão volumétrico de 500 ml e completar o volume com água
Solução de dietilamina	Solução a 10% (V/V) de dietilamina em água
Fase móvel	Água: Acetonitrila: Sol. ácido metanossulfônico: Sol. dietilamina (860:100:20:20). Ajustar o pH para 2,6 com dietilamina.
Fluxo da fase móvel	1 ml/min
Volume de injeção	50 µl
Coluna	Xterra; C ₁₈ 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno; tamanho de partícula 5 µm
Temperatura da coluna	30 °C
Comprimento de onda de leitura	235 nm
Adequabilidade do sistema	Tempos de retenção relativos: 1,0 para quinina e 1,5 para diidroquinina. Resolução entre os picos de quinina e diidroquinina superior a 1,2 e DPR das áreas dos picos registrados inferior a 2,0%

A solução de adequabilidade do sistema foi preparada pesando-se exatamente cerca de 10 mg de sulfato de quinina SQR e 10 mg de diidroquinina em um balão volumétrico de 50 ml. Acrescentaram-se 5 ml de metanol para a dissolução do pó e completou-se o volume com fase móvel. A solução foi filtrada e transferida para *vial*. Os critérios de adequabilidade do sistema foram avaliados com injeções sucessivas desta solução.

A solução amostra foi preparada pesando-se o pó dos comprimidos equivalente a 160 mg de sulfato de quinina e transferindo para balão volumétrico de 100 ml. Foram adicionados cerca de 80 ml de metanol e levou-se à agitação mecânica por 30 minutos. Completou-se o volume com metanol. A solução foi filtrada, descartando os primeiros 10 ml do filtrado e transferiram-se 3 ml do filtrado para balão de 25 ml, completando o volume com fase móvel. A solução foi filtrada e transferida para *vial*. As soluções foram preparadas em duplicata.

O rótulo da substância química de referência de sulfato de quinina recomenda que o teor de água seja determinado volumetricamente antes de sua utilização. Ainda, é recomendado que, para determinações por cromatografia líquida de alta eficiência, seja utilizado o valor de 0,984 mg de sulfato de quinina por mg de SQR. A solução padrão foi preparada pesando-se um valor correspondente a exatamente cerca de 20 mg de sulfato de quinina SQR e transferindo-se para balão volumétrico de 100 ml. Acrescentou-se cerca de 80 ml de fase móvel e levou-se a banho de ultra-som por 10 minutos, completando-se o volume com fase móvel. A solução padrão foi filtrada e transferida para *vial*. O teor de sulfato de quinina nos comprimidos deve estar compreendido entre 90,0% a 110,0% do valor rotulado, levando-se em consideração a soma das áreas dos picos referentes a quinina e diidroquinina das soluções padrão e amostra.

O teste de uniformidade de doses unitárias foi realizado pelo método da variação de peso, a partir do resultado do doseamento (FARMACOPÉIA, 1996).

4.2 Resultados e discussão

4.2.1 Avaliação das condições de armazenamento de antimaláricos

4.2.1.1 CENADI e almoxarifados estaduais

As condições de armazenamento de antimaláricos observadas no CENADI e nos almoxarifados B, C e D foram bastante diversas. Alguns aspectos observados sobre a situação do armazenamento de antimaláricos estão sumarizados na Tabela 21.

Tabela 21 – Resumo das condições de armazenamento de medicamentos antimaláricos observadas no CENADI (A) e nos almoxarifados estaduais (B, C e D)

<i>Descrição do item</i>	<i>A</i>	<i>B_{ES}</i>	<i>C_{ES}</i>	<i>D_{ES}</i>
Uso de ar condicionado	Sim	Sim	Sim	Sim
Medicamentos armazenados ao abrigo da luz solar direta	Sim	Sim	Sim	Sim
Existência de sistema de controle de estoque	Sim	Sim	Sim	Sim
Acesso aos medicamentos permitido somente a pessoal autorizado	Sim	Não	Sim	Sim
Medicamentos armazenados sobre prateleiras ou estrados, afastados do piso e da parede	Sim	Não	Sim	Sim
Registro de temperatura com anotações periódicas	Sim	Não	Sim	Sim
Cadastro das unidades para as quais os medicamentos são distribuídos	Sim	Não	Sim	Sim
Presença de responsável técnico farmacêutico	Não	Não	Sim	Sim
Disponibilidade dos laudos de controle de qualidade dos antimaláricos	Sim	Não	Sim	Não
Existência de procedimentos operacionais (manual da qualidade)	Sim	Não	Sim	Não
Existência de um sistema de controle de distribuição e rastreamento de lotes	Sim	Não	Sim	Não
Registro de umidade com anotações periódicas	Sim	Não	Não	Não

Primeiramente, todos os locais relacionados na Tabela 21 descumprem a RDC 35/2003 (BRASIL, 2003a) em ao menos uma exigência. Ainda que o CENADI não tenha em seu quadro de pessoal um profissional farmacêutico como responsável técnico, as condições de armazenamento observadas foram melhores que as dos almoxarifados estaduais (B_{ES} , C_{ES} e D_{ES}) da região Norte do Brasil, sendo o almoxarifado C_{ES} o que dele mais se aproximou. O profissional farmacêutico é aquele capaz de avaliar as condições de armazenamento, propor melhorias e soluções sendo de presença indispensável. O almoxarifado estadual B_{ES} é notadamente aquele que mais necessita de melhorias nas condições de armazenagem. De fato,

o local visitado não é um almoxarifado propriamente dito e sim um quarto improvisado para a estocagem de antimaláricos.

Apesar de ter sido considerado o melhor almoxarifado visitado na região Norte, o almoxarifado C_{ES} não manteve as amostras pelo período necessário para este estudo. Quando do recolhimento, foi informado que as amostras haviam sido distribuídas como se fossem medicamentos comuns devido a um problema no sistema de informática local.

Sobre os parâmetros relatados na Tabela 21, as ausências mais graves são as de registros de temperatura no almoxarifado B_{ES} e de umidade nos almoxarifados B_{ES}, C_{ES} e D_{ES}. Em uma região de valores extremos de temperatura e umidade e, sabendo-se que os medicamentos antimaláricos podem ser afetados por estas condições, é imperativo que estes parâmetros sejam controlados e registrados periodicamente. Foi relatado que os sistemas de ar condicionado seriam capazes de manter a temperatura e umidade em valores aceitáveis sem a necessidade de registro, mas desajustes podem ocorrer sem que o pessoal dos almoxarifados seja capaz de percebê-los.

A inexistência de um sistema de controle e rastreamento de lotes impede que, em caso de desvio de qualidade conhecido, os medicamentos possam ser recolhidos. Provavelmente, a ausência de procedimentos operacionais formalizados pode ser a causa disto, entre outros fatores, como observado nos almoxarifados B_{ES} e D_{ES}. A formalização dos procedimentos nos almoxarifados estaduais é uma maneira de uniformizar as ações e manter a qualidade do armazenamento de medicamentos. Em complemento, o acesso aos medicamentos deve ser restrito, a fim de evitar desvios, saques ou uso impróprio.

4.2.1.2 Unidades básicas de saúde (UBS) nas localidades

As unidades básicas de saúde (UBS) são locais onde é realizado o diagnóstico de malária e, segundo recomendações da Organização Mundial da Saúde - OMS (WHO, 2002), é oferecido o tratamento oportuno à doença. Desta forma, é necessário que sejam armazenados medicamentos nestas unidades para dispensação à população infectada. O armazenamento de antimaláricos nas UBS é deficitário pelas características dos locais, em sua maioria casas de madeira com telhas de amianto, piso de alvenaria ou casas de madeira e energia elétrica fornecida por grupo gerador. Uma das unidades básicas de saúde visitadas em cada estado

apresentava esta descrição, códigos B₁, C₂ e D₂. Participaram do estudo também três locais que funcionam como postos de saúde, construídos de alvenaria e com energia elétrica da rede pública, códigos B₂, C₁ e D₁ (Tabela 22)

Tabela 22 – Resumo das condições de armazenamento de medicamentos antimaláricos observadas nas UBS das localidades.

<i>Descrição do item</i>	<i>B</i>		<i>C</i>		<i>D</i>	
	<i>B₁</i>	<i>B₂</i>	<i>C₁</i>	<i>C₂</i>	<i>D₁</i>	<i>D₂</i>
Tipo de construção ^a	M	A	A	M	A	M
Cadastro de usuários dos medicamentos	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Existência de sistema de controle de estoque	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim	Sim
Medicamentos armazenados sobre prateleiras ou estrados, afastados do piso e da parede	Sim	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
Acesso aos medicamentos permitido somente a pessoal autorizado	Não	Sim	Sim	Sim	Não	Sim
Medicamentos armazenados ao abrigo da luz solar direta	Não	Não	Sim	Sim	Sim	Sim
Registro de temperatura com anotações periódicas	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Registro de umidade com anotações periódicas	Não	Não	Não	Não	Não	Não
Existência de procedimentos operacionais (manual da qualidade)	Não	Não	Não	Não	Não	Não

^a: M = madeira; A = alvenaria

Os requisitos da RDC 35/2003 da ANVISA (BRASIL, 2003a) não se aplicam às UBS, pois estas unidades, apesar de realizarem distribuição e fracionamento de medicamentos não têm como atividade fim o armazenamento de medicamentos. Entretanto, alguns requisitos da norma poderiam ser implementados nas UBS para melhorar a qualidade da estocagem de medicamentos. Um atenuante ao armazenamento precário de medicamentos é a alta rotatividade na reposição dos antimaláricos nas UBS, porém, em locais de difícil acesso, a reposição dos medicamentos pode ocorrer em até seis meses, após a estação das chuvas, submetendo os medicamentos a condições de estresse prolongadas.

Considerações sobre o aspecto das amostras à época de seu recolhimento serão feitas individualmente na seção seguinte.

4.2.2 Avaliação da qualidade de antimaláricos

4.2.2.1 Controle de qualidade de comprimidos de difosfato de cloroquina

Os comprimidos de difosfato de cloroquina são acondicionados em fita (“strip”) de papel, revestidas internamente por um filme de plástico. No recolhimento das amostras, estas fitas se encontravam úmidas, porém este revestimento interior impediu que os comprimidos fossem afetados. A amostra que permaneceu na região D₂ apresentou-se manchada de azul, provavelmente devido ao corante Giemsa utilizado nas lâminas para diagnóstico de malária, entretanto os comprimidos estavam com coloração normal. A Figura 8 apresenta uma fita recolhida na localidade descrita. As demais amostras apresentaram-se com aspecto satisfatório.



Figura 8 – Aspecto da amostra de comprimidos de cloroquina recolhida em D₁

Outro problema verificado quando do recebimento da amostra de comprimidos de cloroquina foi com respeito à rotulagem do medicamento. Segundo o Index Merck (THE MERCK, 2006), as massas molares de difosfato de cloroquina e cloroquina base são, respectivamente, 515,87 g/mol e 319,87 g/mol, ou seja, para a produção de um medicamento contendo 150 mg de cloroquina base, é necessário que este comprimido contenha 241,93 mg de difosfato de cloroquina. Esta informação está escrita de maneira equivocada no rótulo do produto. É indicado que cada comprimido contém 258,12 mg de difosfato de cloroquina, e não 241,93 mg. Este fato está ilustrado na Figura 9.

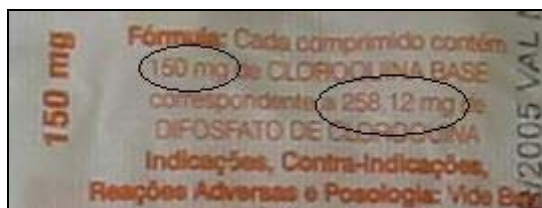


Figura 9 – Detalhe da rotulagem dos comprimidos de cloroquina

Para o teste de identificação por espectrofotometria no ultravioleta, os valores de absorvância em 343 nm e 329 nm, bem como a razão entre eles, estão apresentados na Tabela 23. A sobreposição dos espectros do padrão e de uma amostra está apresentada na Figura 10. Os valores encontrados permaneceram na faixa 1,00 a 1,15 e, portanto, a identificação da cloroquina foi positiva para todas as amostras estudadas.

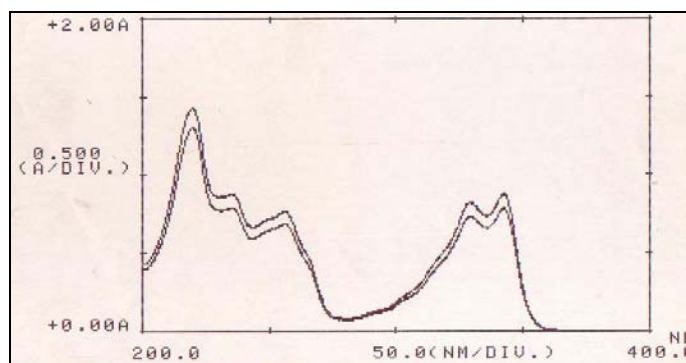


Figura 10 – Sobreposição dos espectros na região do ultravioleta da solução padrão de difosfato de cloroquina e de uma amostra de comprimidos.

Tabela 23 – Razão entre as absorvâncias a 343 nm e 329 nm para teste de identificação de cloroquina em comprimidos

<i>Região</i>	<i>Absorvância 343 nm</i>	<i>Absorvância 329 nm</i>	<i>Razão A_{343}/A_{329}</i>
A	0,398	0,368	1,08
B _{ES}	0,415	0,385	1,08
B ₁	0,341	0,337	1,01
B ₂	0,366	0,363	1,01
C ₁	0,339	0,335	1,01
C ₂	0,386	0,378	1,02
D _{ES}	0,404	0,406	1,00
D ₁	0,302	0,300	1,01
D ₂	0,401	0,377	1,06

Estão resumidos na Tabela 24 os resultados encontrados para os demais testes de controle de qualidade realizados nos comprimidos de cloroquina.

O peso médio encontrado ficou em torno de 422 mg, com variação individual, em torno da média, muito pequena, de -3,50% a 2,80% para as amostras de todas as regiões estudadas. Valores muito próximos para friabilidade, desintegração e dureza também foram encontrados, demonstrando homogeneidade entre os comprimidos deste lote.

Os testes de dissolução das amostras de difosfato de cloroquina comprimidos foram executados em uma só etapa, com o uso de 6 comprimidos, já que todas as unidades testadas apresentaram valores de cedência superiores a 80%, cinco por cento superiores ao valor de tolerância, 75%. As médias das cedências encontradas estavam na faixa de 95,99% (local D₂) a 99,15% (local B₂). A comparação de médias das cedências utilizando o teste de Tukey após análise de variância não mostrou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os valores encontrados para a amostra do CENADI (local A) e as amostras dos demais locais de armazenamento. Os valores de cedência no teste de dissolução encontrados devem ser atribuídos à variabilidade natural do lote de comprimidos e, deste modo, não foi possível fazer uma correlação satisfatória entre condições de armazenamento e porcentagem de cedência.

O mesmo raciocínio pode ser empregado para os valores encontrados na determinação de teor. Os valores encontrados para amostras de todos os locais de armazenamento estavam na faixa de 98,34% no local C₂ a 102,55% no local B₁, com média de 99,91% e DPR de 1,27%. Em resumo, não foram encontradas diferenças nos resultados apresentados pelas amostras de difosfato de cloroquina comprimidos armazenadas no CENADI (local A) e nos demais locais de armazenamento. Todas as amostras atenderam às especificações dos testes executados.

Em estudos realizados em outros países, foi observada a redução da porcentagem de cedência no teste de dissolução de comprimidos contendo cloroquina armazenados em condições tropicais simuladas (40 °C e 75% de umidade relativa). Dos sete produtos analisados por RISHA e colaboradores (2002), dois deixaram de cumprir com os requisitos da Farmacopéia Americana 24^a edição após 6 meses de estocagem nas condições citadas. No estudo desenvolvido por BALLEREAU e colaboradores (1997), foi observada redução no teor de cloroquina em comprimidos após 540 dias de permanência em condições reais de armazenagem. A não observação destes problemas com os comprimidos de difosfato de

cloroquina avaliados no presente trabalho pode ser devido à robustez do produto em relação às condições de armazenagem ou ao período insuficiente (150 dias) de permanência na Região Norte para que estes efeitos pudessem ser observados. Neste segundo caso, estudos posteriores são sugeridos para a confirmação desta hipótese.

Tabela 24 – Resultados dos testes realizados com amostras de comprimidos de difosfato de cloroquina por local de armazenamento

Cloroquina - 150 mg - Lote 05030650															
<i>Região</i>	<i>Determinação de peso</i>				<i>Friab. (%)</i>	<i>Destint. (min)</i>	<i>Dureza (kgf)</i>	<i>Diss. (%)</i>	<i>Un. Diss.</i>	<i>Uniformidade de doses unitárias</i>				<i>Teor (%)</i>	<i>Observações</i>
	<i>Média (mg)</i>	<i>Inf. (%)</i>	<i>Sup. (%)</i>	<i>Friab. (%)</i>						<i>Inf. (%)</i>	<i>Sup. (%)</i>	<i>DPR (%)</i>			
A	423,12	-1,61	2,05	0,39	10	7,75	96,15	6	98,60	102,26	1,34	100,21			
B_{ES}	419,42	-1,70	2,15	0,42	10	8,33	97,17	6	98,21	100,83	0,83	99,59			
B₁	421,20	-3,50	2,80	1,33	8	7,00	99,01	6	99,32	105,42	1,88	102,55			
B₂	422,42	-1,97	1,95	0,44	9	7,93	99,15	6	99,48	103,23	1,05	101,48			
C_{ES}														Amostra extraviada	
C₁	423,71	-2,29	2,32	0,37	13	6,88	98,41	6	96,69	99,82	0,99	98,96			
C₂	423,79	-2,82	2,40	0,47	10	6,93	99,06	6	95,57	100,70	1,68	98,34			
D_{ES}	422,24	-2,03	2,08	0,25	10	7,90	98,14	6	97,01	100,91	1,28	98,85			
D₁	423,20	-2,04	1,70	0,33	10	7,48	97,81	6	97,19	100,90	1,17	99,22			
D₂	423,43	-1,41	0,96	0,34	11	7,85	95,99	6	98,55	100,89	0,86	99,93			

4.2.2.2 Controle de qualidade de cloridrato de mefloquina comprimidos

Primeiramente, serão apresentados os resultados referentes à convalidação do método espectrofotométrico descrito por RAO & MURTHY (2002) para os comprimidos de cloridrato de mefloquina e, posteriormente, serão apresentados os resultados dos ensaios de controle de qualidade realizados na amostra recolhida.

4.2.2.2.1 Linearidade do método espectrofotométrico para determinação de cloridrato de mefloquina

A avaliação da linearidade do método espectrofotométrico para a determinação do teor de cloridrato de mefloquina em comprimidos foi realizada a partir da construção da curva analítica com os dados de absorvância das soluções correspondentes à faixa de 50 a 150% da concentração de trabalho (Tabela 25).

Tabela 25 – Concentrações de cloridrato de mefloquina, absorvâncias medidas e fatores de resposta para a construção da curva analítica do método de doseamento em comprimidos, utilizando metanol como solvente.

Cloridrato de mefloquina ($\mu\text{g/ml}$)	Nível de concentração *	n	Absorvância	Fator de resposta $\times 100$
20,28	50%	1	0,269	1,3261
		2	0,268	1,3212
		3	0,267	1,3163
30,43	75%	1	0,395	1,2982
		2	0,398	1,3080
		3	0,395	1,2982
40,57	100%	1	0,525	1,2941
		2	0,527	1,2990
		3	0,527	1,2990
50,71	125%	1	0,654	1,2896
		2	0,654	1,2896
		3	0,659	1,2995
60,85	150%	1	0,788	1,2949
		2	0,787	1,2932
		3	0,785	1,2900
Média dos fatores de resposta DPR (%)				1,3011
				0,89

* em relação à concentração de trabalho

A curva analítica construída com os dados da Tabela 25 é mostrada na Figura 11.

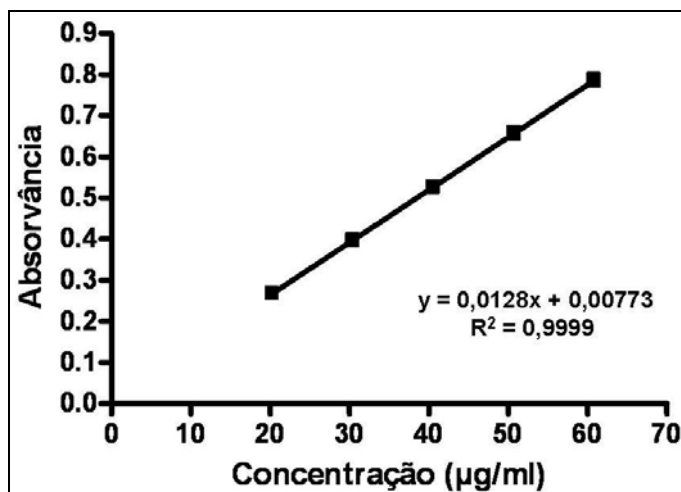


Figura 11 – Curva analítica para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos por espectrofotometria no ultravioleta, utilizando metanol como solvente.

Em relação aos dados obtidos após a regressão linear, a distribuição dos resíduos foi normal (shapiro-wilk) com $p > 0,1$. A interseção com o eixo das abcissas foi estatisticamente diferente de zero e foi calculada pela equação da reta resultando em 0,007734, valor que é correspondente a 1,46% da absorvância média obtida com a concentração de trabalho de 100%. Quando a interseção com o eixo das abcissas é estatisticamente diferente de zero, é recomendado por GREEN (1996) que este valor seja inferior a 2% da resposta obtida com a concentração de trabalho de 100% (40 µg/ml). O DPR da média dos fatores de resposta foi de 0,89%, mostrando homogeneidade na relação entre as absorvâncias medidas e as concentrações do analito.

A avaliação da linearidade do método espectrofotométrico para a determinação da cedência de cloridrato de mefloquina de comprimidos no teste de dissolução também foi realizada a partir da construção da curva analítica com os dados de absorvância das soluções, preparadas em ácido clorídrico 0,1 mol/l, correspondentes à faixa de 33 a 133% da concentração de trabalho (Tabela 26).

Tabela 26 – Concentrações de cloridrato de mefloquina, absorvâncias medidas e fatores de resposta para a construção da curva analítica do método de determinação da cedência em comprimidos no teste de dissolução por espectrofotometria no ultravioleta utilizando ácido clorídrico 0,1 mol/l como solvente.

Cloridrato de mefloquina (µg/ml)	Nível de concentração *	n	Absorvância	Fator de resposta×100
20,16	33%	1	0,256	1,2699
		2	0,256	1,2699
		3	0,256	1,2699
30,24	50%	1	0,387	1,2799
		2	0,388	1,2832
		3	0,387	1,2799
40,32	66%	1	0,514	1,2749
		2	0,516	1,2799
		3	0,512	1,2699
60,48	100%	1	0,794	1,3129
		2	0,789	1,3047
		3	0,784	1,2964
80,63	133%	1	1,057	1,3109
		2	1,054	1,3071
		3	1,057	1,3109
Média dos fatores de resposta				1,2880
DPR (%)				1,33

* em relação à concentração de trabalho

A curva analítica construída com os dados da Tabela 26 está representada na Figura 12.

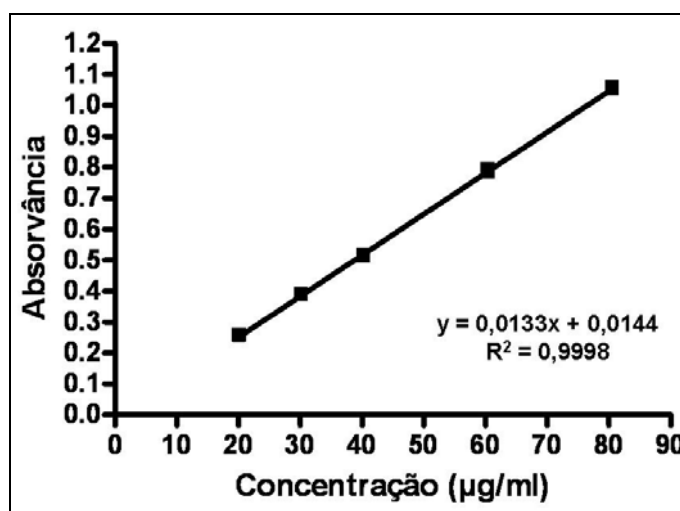


Figura 12 – Curva analítica para a determinação da cedência, por espectrofotometria no ultravioleta, de cloridrato de mefloquina de comprimidos no teste de dissolução utilizando ácido clorídrico 0,1 mol/l como solvente

A distribuição dos resíduos, após análise da regressão linear, se mostrou normal (shapiro-wilk) com valor $p > 0,1$. A interseção com o eixo Y calculada pela equação da reta é 0,0144, correspondente a 1,83% da absorvância média obtida com a concentração de trabalho de 100% (60 µg/ml), estando de acordo com GREEN (1996).

4.2.2.2.2 Precisão intra-ensaios e precisão inter-ensaios

Para a avaliação da precisão intra-ensaios e da precisão intermediária (inter-ensaios), foram avaliados os valores de DPR entre os resultados de teor de 6 determinações realizadas em dois dias consecutivos. Os resultados estão relacionados na Tabela 27.

Tabela 27 – Valores médios de absorvância e teor de cloridrato de mefloquina em comprimidos para avaliação da precisão do método de doseamento por espectrofotometria no UV

Amostra	1º dia		2º dia	
	Absorvância	Teor de cloridrato de mefloquina	Absorvância	Teor de cloridrato de mefloquina
1	0,531	94,77	0,538	94,61
2	0,529	94,03	0,541	93,94
3	0,539	94,48	0,549	93,42
4	0,542	94,02	0,537	94,42
5	0,534	93,30	0,579	94,33
6	0,559	95,44	0,582	95,03
	Média	94,34	Média	94,29
	DPR (%)	0,78	DPR (%)	0,59

A média dos valores obtidos (n=12) foi de 94,32% com DPR de 0,66%. As médias obtidas nos dias 1 e 2 não foram diferentes estatisticamente ($p < 0,05$). Estes valores estão de acordo com a legislação brasileira e com a literatura (GREEN, 1996; BRASIL, 2003c; RIBANI, 2004).

4.2.2.2.3 Exatidão

Primeiramente foi realizada a determinação do teor da amostra com concentração correspondente a 60% do valor rotulado, à qual foram adicionadas as quantidades de padrão para a preparação das soluções fortificadas. Estão relacionadas na Tabela 28 as concentrações

teóricas correspondentes a 80, 100 e 120% da concentração de trabalho (40 µg/ml) com aquelas calculadas a partir dos valores de absorvância obtidos.

Tabela 28 – Porcentagens de recuperação do padrão de cloridrato de mefloquina adicionado à amostra contendo quantidade conhecida do analito para avaliação da exatidão do método para doseamento no UV

<i>Nível</i>	<i>n</i>	<i>Padrão adicionado</i> (µg/ml)	<i>Concentração</i> <i>teórica (µg/ml)</i>	<i>Recuperado</i> (µg/ml)	<i>Porcentagem</i> (%)	<i>Médias</i>
80% (32 µg/ml)	1	8,55	32,65	31,65	96,94	98,48
	2	8,25	32,54	32,22	99,01	
	3	8,41	31,81	31,65	99,49	
100% (40 µg/ml)	1	16,06	39,44	39,23	99,46	99,85
	2	16,23	39,24	38,87	99,06	
	3	16,64	41,84	42,27	101,04	
120% (48 µg/ml)	1	25,41	48,06	48,08	100,04	100,05
	2	26,40	49,67	49,71	100,07	
	3	24,46	48,20	48,22	100,03	

Os resultados de porcentagem de recuperação do padrão de trabalho adicionado a uma amostra contendo 60% da concentração de trabalho mostraram valores próximos a 100% e dentro da faixa preconizada pela literatura, de 98,0% a 102,0% (BRASIL, 2003c; GREEN, 1996; RIBANI, 2004).

4.2.2.2.4 Ensaios de controle de qualidade para comprimidos de cloridrato de mefloquina

As amostras de comprimidos de cloridrato de mefloquina apresentaram-se normais quando do recebimento, exceto aquela armazenada na região D₂ que, tal como os comprimidos de cloroquina, estavam externamente manchadas de azul. Os comprimidos de cloridrato de mefloquina produzidos são embalados em blisters e, portanto, melhor protegidos do contato com o ambiente. Os comprimidos do blister manchado de azul estavam com coloração normal.

Os testes de identificação para cloridrato de mefloquina nas amostras foram todos positivos. Um exemplo da sobreposição entre os espectros na região do ultravioleta para uma amostra e o padrão é dado na Figura 13.

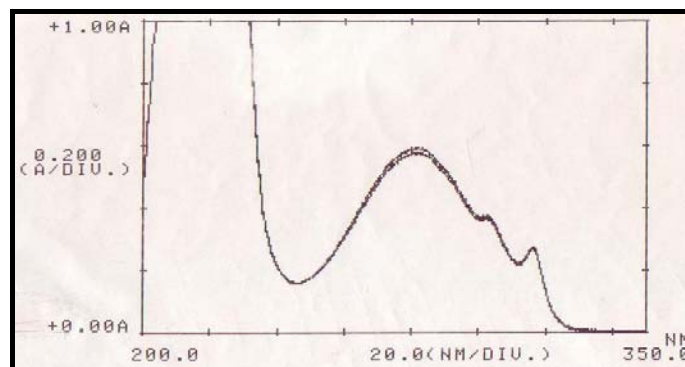


Figura 13 – Sobreposição dos espectros na região do ultravioleta de uma amostra de comprimidos e do padrão de cloridrato de mefloquina.

Estão resumidos na Tabela 29 os resultados encontrados para os demais testes de controle de qualidade realizados nos comprimidos de cloridrato de mefloquina.

O peso médio encontrado para as amostras foi de, aproximadamente, 512 mg. Os desvios individuais em relação ao peso médio variaram de -6,45% a 4,36% considerando-se as amostras de todos os locais de armazenamento. O desvio de -6,45% foi encontrado para uma única unidade da amostra armazenada no local C₁. Segundo a F.Bras.IV, até dois comprimidos podem apresentar valores de desvio fora da faixa especificada ($\pm 5\%$), porém, nenhuma unidade pode apresentar desvio maior que o dobro desta faixa ($\pm 10\%$) (FARMACOPÉIA, 1988). Amostras de três outros locais (A, B₁ e C₂) apresentaram uma unidade com desvio inferior a -5% em relação ao peso médio sem, no entanto, serem superiores ao dobro dos limites de especificação.

Em relação aos testes de friabilidade, desintegração e dureza não foram encontrados problemas, todos os valores encontrados estavam na faixa especificada. Os valores de friabilidade das amostras das regiões A e B_{ES} foram apresentados como zero por serem negligenciáveis, apesar dos comprimidos testados não serem revestidos.

Foi necessário testar 12 comprimidos de cada local de armazenamento para que os critérios do teste de dissolução fossem atendidos, ou seja, mais que 75% dissolvidos em 60 minutos. Fazendo-se análise de variância e comparação das médias das cedências pelo teste de Tukey, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as porcentagens de cedência dos comprimidos dos locais B₁, C₂ ($p < 0,05$), C₁, D₁ ($p < 0,01$) comparadas aos do local A. É sabido que as condições de armazenamento de medicamentos podem influir na qualidade

destes, inclusive reduzindo a porcentagem de cedência no teste de dissolução (KAYUMBA *et al.*, 2004; RISHA *et al.*, 2002). Uma hipótese para a redução da cedência nessas amostras poderia ser o armazenamento inadequado, visto que as condições observadas nestes locais diferem daquelas do CENADI (Tabela 21 e Tabela 22).

Outra hipótese para a queda na porcentagem de cedência nas amostras dos locais de armazenamento B₁, C₁, C₂ e D₁ refere-se à relação entre os valores de teor encontrados no doseamento e as porcentagens de cedência no teste de dissolução. Teoricamente, um comprimido que apresente menor quantidade de cloridrato de mefloquina pode apresentar valores mais baixos de cedência. Assim, as diferenças observadas nas porcentagens de cedência de cloridrato de mefloquina poderiam ser devido aos diferentes valores de teor apresentados por estas amostras no doseamento. Entretanto, relacionando-se os valores de teor com os de cedência no teste de dissolução, o coeficiente de determinação obtido é baixo ($R^2 = 0,2715$). Um exemplo é a amostra da região B₂, a qual apresentou o maior valor na determinação de teor (96,24%), mas um valor médio da porcentagem de cedência intermediário (78,85%) em relação às demais amostras. Este comportamento está ilustrado na Figura 14 e na Figura 15.

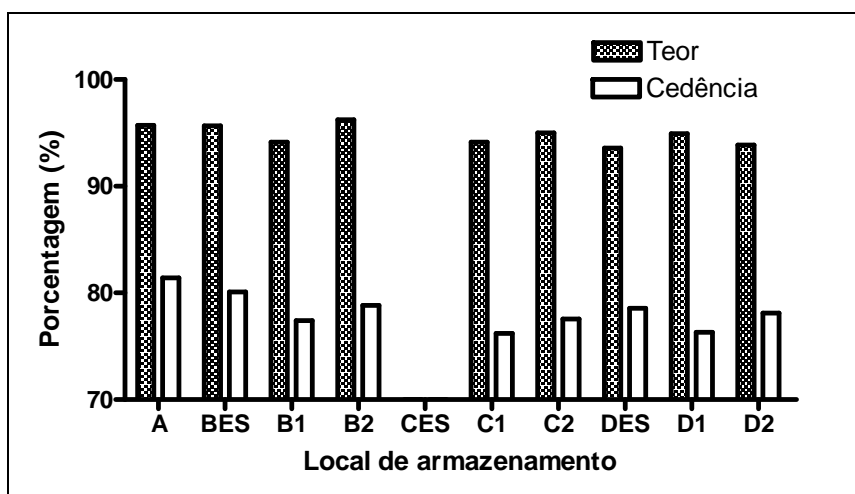


Figura 14 – Relação entre os teores de cloridrato de mefloquina e as porcentagens de cedência no teste de dissolução de comprimidos de cloridrato de mefloquina de todos os locais de armazenamento estudados.

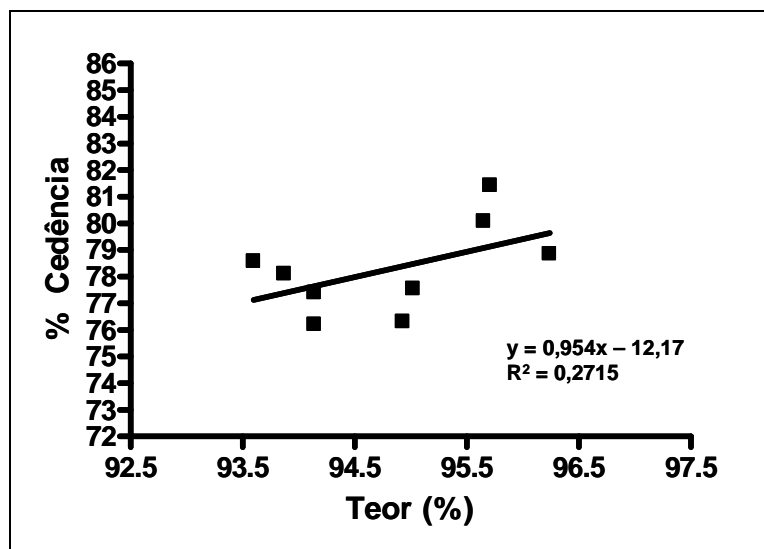


Figura 15 – Representação gráfica da correlação entre os valores de teor e porcentagem de cedência de cloridrato de mefloquina dos comprimidos das regiões estudadas

Os valores encontrados no teste de uniformidade de doses unitárias refletem aqueles encontrados no teste de determinação de peso, estando dentro da faixa especificada para todas as amostras.

Em suma, as amostras de todas as regiões cumpriram com as especificações dos testes realizados e, a redução da porcentagem de cedência na dissolução observada em amostras de alguns locais deve ser investigada mais profundamente a fim de se estabelecer a sua causa: se por problema de produção industrial ou armazenamento.

Tabela 29 – Resultados dos testes realizados com amostras de comprimidos de cloridrato de mefloquina por local de armazenamento

Mefloquina - 250 mg - Lote 0503023														
Região	Determinação de peso				Friab. (%)	Destint. (min)	Dureza (kgf)	Diss. (%)	Un. Diss.	Uniformidade de doses unitárias			Teor (%)	Observações
	Média (mg)	Inf. (%)	Sup. (%)	Inf. (%)						Sup. (%)	DPR (%)			
A	512,92	-5,22	2,61	0,00	0,5	6,05	81,42	12	90,71	97,82	2,06	95,71		
B_{ES}	506,47	-5,60	3,97	0,00	0,5	5,85	80,08	12	93,94	97,65	1,39	95,65		
B₁	511,66	-3,12	1,87	0,04	0,5	6,48	77,40	12	91,49	95,90	1,61	94,14		
B₂	518,39	-3,36	1,79	0,03	0,5	7,93	78,85	12	93,00	97,20	1,39	96,24		
C_{ES}													Amostra extraviada	
C₁	509,30	-6,45	3,84	0,05	0,5	6,88	76,21	12	88,06	96,83	2,69	94,14		
C₂	513,55	-4,94	4,36	0,12	0,5	6,13	77,55	12	89,08	97,71	2,96	95,02		
D_{ES}	510,70	-4,31	3,15	0,09	0,5	7,33	78,57	12	89,57	96,55	2,67	93,60		
D₁	515,64	-3,45	2,57	0,08	0,5	7,83	76,31	12	91,66	96,24	1,80	94,93		
D₂	509,47	-4,95	3,25	0,05	0,5	6,85	78,11	12	91,77	96,92	1,96	93,87		

4.2.2.3 Controle de qualidade de comprimidos de difosfato de primaquina

O recolhimento das amostras de comprimidos de primaquina revelou um problema importante em todos os locais de armazenamento, inclusive no local A (CENADI): a folha de alumínio que sustenta os comprimidos nos blisters estava descolada da parte plástica, conforme ilustrado na Figura 16. Deste modo, os comprimidos não estavam mais protegidos, estando sujeitos aos efeitos da temperatura e umidade, além do que poderiam sair da embalagem, fazendo com que os pacientes perdessem a quantidade de doses necessária para o tratamento.



Figura 16 – Amostra de comprimidos de primaquina armazenados na região A (CENADI) apresentando a folha de alumínio do blister descolada

Os testes de identificação foram positivos para as amostras de todos os locais de armazenamento. As manchas correspondentes a difosfato de primaquina apresentaram um fator de retenção (R_f) de 0,2. A identificação também foi confirmada pelo tempo de retenção em CLAE e ainda pelos espectros na região do ultravioleta referentes aos picos cromatográficos obtidos (Figura 17).

Estão resumidos na Tabela 30 os resultados dos demais testes de controle de qualidade realizados com os comprimidos de primaquina.

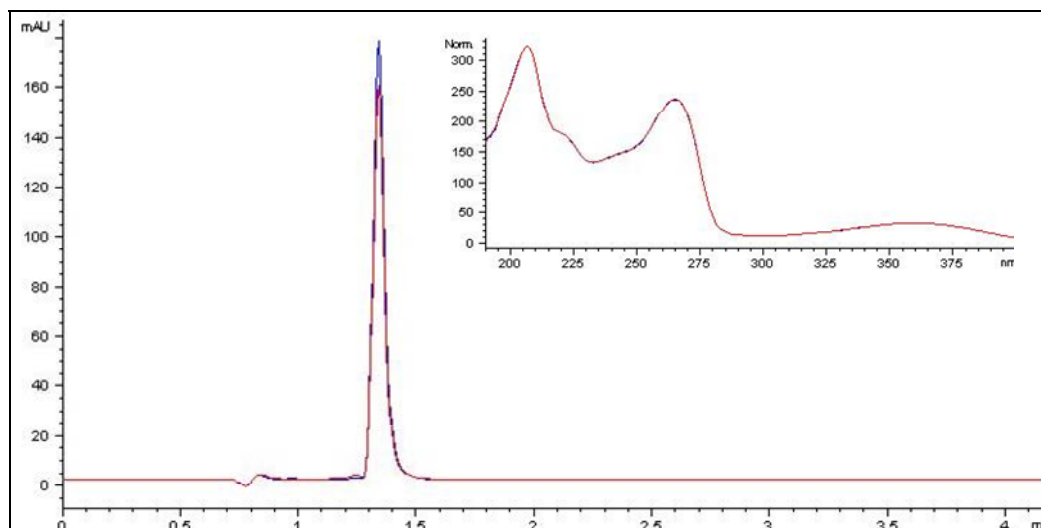


Figura 17 – Sobreposição dos cromatogramas do padrão de difosfato de primaquina e de uma amostra de comprimidos e sobreposição dos espectros na região do ultravioleta referentes aos picos cromatográficos (inserto).

O peso médio das amostras foi aproximadamente 137 mg, com os desvios individuais variando de -7,25% a 12,05%. Este valor de 12,05% foi encontrado na amostra que permaneceu no local C₂, sendo o único fora da faixa especificada, -7,5% a 7,5%, mas ainda inferior ao dobro do limite de especificação. Amostras de outros dois locais (B₁ e C₂) apresentaram unidade com desvio maior que o especificado, porém inferior ao dobro do limite de especificação.

Os testes de friabilidade, desintegração e dureza apresentaram valores dentro dos respectivos limites de aceitação.

O teste de dissolução apresentou faixa de porcentagens de cedência das amostras analisadas entre 90,03% e 95,41%, estando acima do valor mínimo exigido, 80%. Todas as amostras passaram o teste de dissolução no 1º estágio, ou seja, foram suficientes 6 comprimidos para a sua realização. O teste de Tukey realizado após análise de variância não mostrou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as médias das cedências das amostras de todos os locais de armazenamento.

Tabela 30 – Resultados dos testes realizados com amostras de comprimidos de difosfato de primaquina por local de armazenamento.

Primaquina - 15 mg - Lote 04071297															
Região	Determinação de peso				Friab. (%)	Destint. (min)	Dureza (kgf)	Diss. (%)	Un. Diss.	Uniformidade de doses unitárias				Teor (%)	Observações
	Média (mg)	Inf. (%)	Sup. (%)	Friab. (%)						Inf. (%)	Sup. (%)	DPR (%)	Teor (%)		
A	138,85	-3,54	4,86	0,13	6	6,33	90,36	6	89,59	109,32	5,69	97,72			
B_{ES}	135,51	-3,71	7,00	0,17	5	7,10	93,60	6	91,18	102,13	3,36	94,77			
B₁	136,63	-4,45	7,54	0,21	6	5,75	90,81	6	92,51	100,33	3,11	95,47			
B₂	137,84	-6,04	5,46	0,14	4	6,20	92,09	6	89,93	100,87	3,45	95,88			
C_{ES}													Amostra extraviada		
C₁	138,94	-6,20	6,17	0,14	5	6,55	93,69	6	87,30	97,95	3,94	96,30			
C₂	137,14	-4,39	12,05	0,18	3	5,30	95,41	6	88,36	98,62	4,20	93,89			
D_{ES}	136,44	-4,02	5,99	0,15	4	6,50	90,03	6	91,27	101,98	4,05	94,90			
D₁	138,58	-7,25	10,86	0,13	4	6,25	93,77	6	91,37	102,48	4,07	96,24			
D₂	135,18	-3,95	4,00	0,20	4	5,80	92,32	6	93,08	99,83	2,86	96,16			

O teste de uniformidade de doses unitárias mostrou certa variabilidade entre os teores individuais de difosfato de primaquina nos comprimidos sem, contudo, ultrapassar os limites de especificação para este teste. O maior DPR encontrado para a média dos teores foi de 5,69%, inferior a 6,0% e os teores individuais ficaram na faixa de 87,30% a 109,32%, dentro do especificado que é de 85,0% a 115,0%.

Os valores da determinação de teor para os comprimidos de primaquina também estavam muito próximos entre si, com média de 95,70% e DPR de 1,16%.

Deste modo, pode-se dizer que as amostras de comprimidos de difosfato de primaquina que ficaram armazenadas na região norte do Brasil não sofreram influência das altas temperaturas e da umidade da região. As amostras de todas as regiões cumpriram com os testes realizados, sendo que o único problema observado foi o descolamento do blister. Como isto também ocorreu na amostra que permaneceu no CENADI, este problema foi de produção industrial e não de estabilidade em campo.

4.2.2.4 Controle de qualidade de comprimidos de sulfato de quinina

As amostras de comprimidos de quinina mostraram-se satisfatórias quando de seu recebimento, não apresentando sinais externos de má qualidade.

As amostras de todos os locais de armazenamento apresentaram fluorescência em 365 nm com adição de ácido sulfúrico diluído (1:350) que cessou com a adição de gotas de ácido clorídrico. No teste de substâncias relacionadas, as manchas principais das soluções amostra corresponderam em cor e posição com a mancha da solução padrão de sulfato de quinina SQR, indicando identificação positiva para todas elas. Não foram encontradas manchas secundárias nas soluções amostra e a solução de substâncias relacionadas mostrou manchas nitidamente separadas.

Estão resumidos na Tabela 31 os resultados para os demais testes de controle de qualidade realizados com os comprimidos de quinina.

O teste de determinação de peso revelou problemas com amostras dos dois lotes analisados. Para comprimidos de peso médio em torno de 700 mg, a F.Bras.IV estabelece que o máximo de variação permitida é de $\pm 5\%$. O lote com final 1022 que permaneceu no CENADI (local A) apresentou uma unidade com o dobro do desvio porcentual permitido, 10,80% estando, portanto, em desacordo. Esta amostra apresentou também uma unidade com desvio de -5,17%, inferior ao permitido, mas que sozinho não seria responsável pela não conformidade. Estão ilustrados na Figura 18 os valores de variação individual do peso dos comprimidos desta amostra em relação ao peso médio. As amostras dos locais B_{ES} e B₂ também apresentaram uma unidade cada com desvios fora da faixa de especificação, em relação ao peso médio sem, no entanto, superar o dobro dos valores especificados.

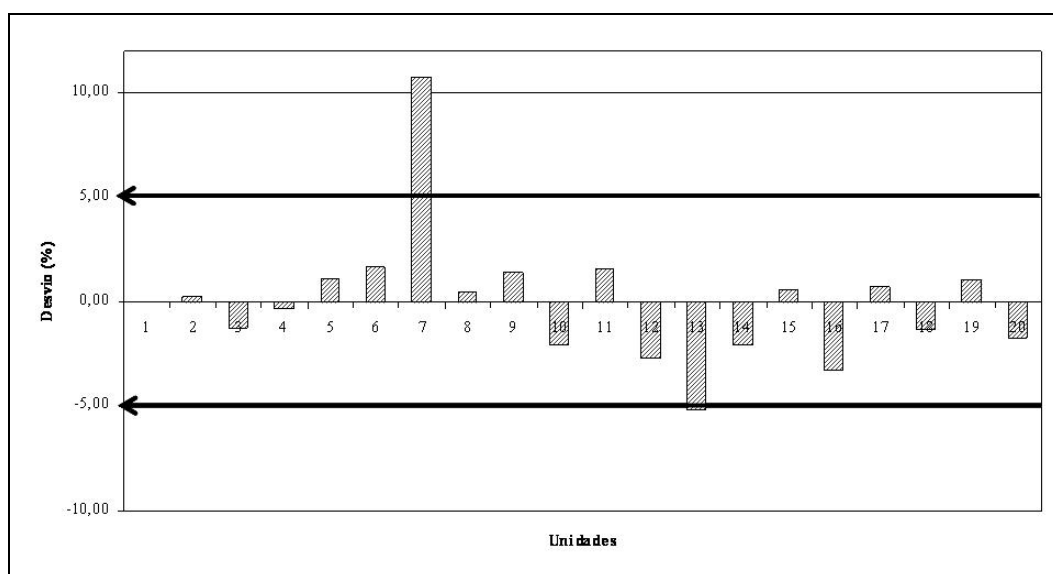


Figura 18 – Variação porcentual em relação ao peso médio no teste de determinação de peso de comprimidos de quinina do lote final 1022 do local A. As setas indicam os limites de especificação da F.Bras.IV.

O lote com final 4103 apresentou, na amostra armazenada no local C₂, três unidades com valores de desvio além da faixa permitida, levando à reprovação neste teste. Estão mostrados na Figura 19 as variações individuais encontradas para esta amostra. Ainda, as amostras deste lote dos locais A e C₁ apresentaram desvios de uma unidade cada em relação ao peso médio fora da faixa de especificação. Como estes valores não superaram o dobro do especificado, o resultado para os testes de determinação de peso foram considerados satisfatórios.

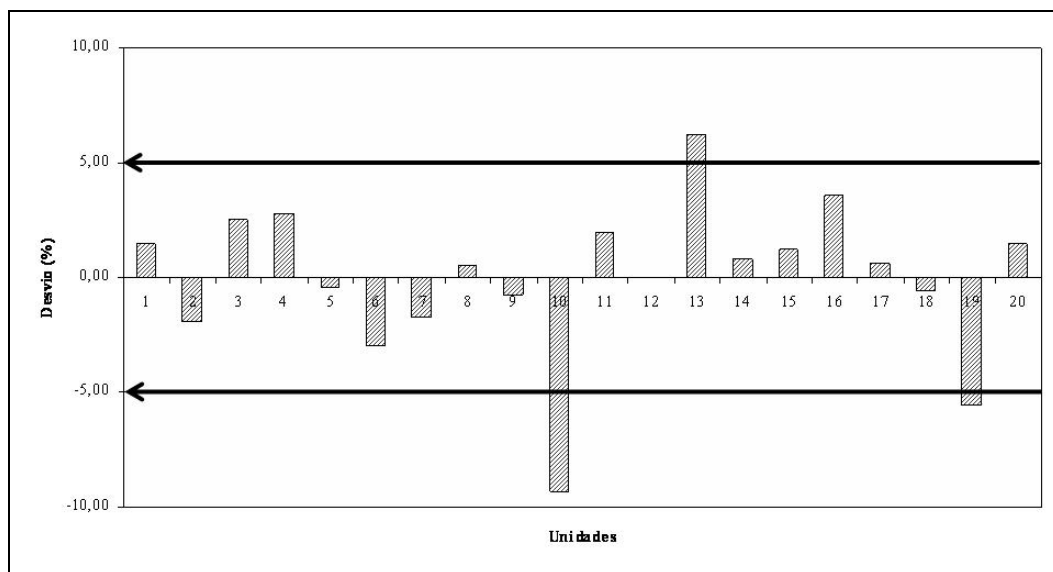


Figura 19 – Variação porcentual em relação ao peso médio no teste de determinação de peso da amostra de comprimidos de quinina do lote final 4103 do local C₂. As setas indicam os limites de especificação da F.Bras.IV.

Estas não conformidades com o teste de determinação de peso apresentadas provavelmente estão relacionadas com problemas no processo produtivo destes comprimidos, pois foram observados tanto nas amostras que ficaram armazenadas no campo quanto naquelas que permaneceram em condições ideais. O aparecimento de desvios superiores ao especificado para uma unidade das amostras B_{ES} e B₂ para o lote final 1022 e A e C₁ para o lote final 4103 confirmam a repetição dos desvios das amostras destes lotes nos locais A e C₂, respectivamente.

Em relação aos testes de friabilidade, dureza e desintegração, todas as amostras apresentaram valores de acordo com as especificações.

Todas as amostras passaram no teste de dissolução, entretanto, para as amostras dos locais D_{ES}, D₁ e D₂ foi necessário que o estágio 2 fosse realizado, utilizando 12 comprimidos. O resultado apresentado para a porcentagem de cedência dessas amostras é uma média dos valores de 12 unidades. As outras amostras necessitaram apenas do 1º estágio deste teste. A comparação das médias das cedências de todas as amostras pelo teste de Tukey após análise de variância não mostrou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os valores apresentados pelas amostras de cada lote do local A e as dos outros locais de armazenamento.

Em estudo realizado por KAYUMBA e colaboradores (2004) foram encontrados problemas com a cedência de sulfato de quinina no teste de dissolução. Três amostras de comprimidos de sulfato de quinina foram submetidas a condições tropicais simuladas (40 °C e 75% de umidade relativa) por 6 meses sendo que uma delas apresentou redução da cedência. Uma redução neste valor foi observada para as amostras D_{ES}, D₁ e D₂, mas sem significância estatística. Como para os comprimidos de difosfato de cloroquina, pode-se inferir sobre a robustez dos comprimidos frente às condições impróprias de armazenagem ou ao tempo de permanência insuficiente destas amostras em campo.

Os valores da determinação de teor para todas as amostras dos dois lotes analisados estão de acordo com a faixa especificada de 90,0% a 110,0%, com média de 93,26% para os comprimidos de sulfato de quinina do lote final 1022 e 93,88% para os comprimidos do lote final 4103. A sobreposição dos cromatogramas do padrão de quinina e de amostras dos dois lotes analisados está representada na Figura 20.

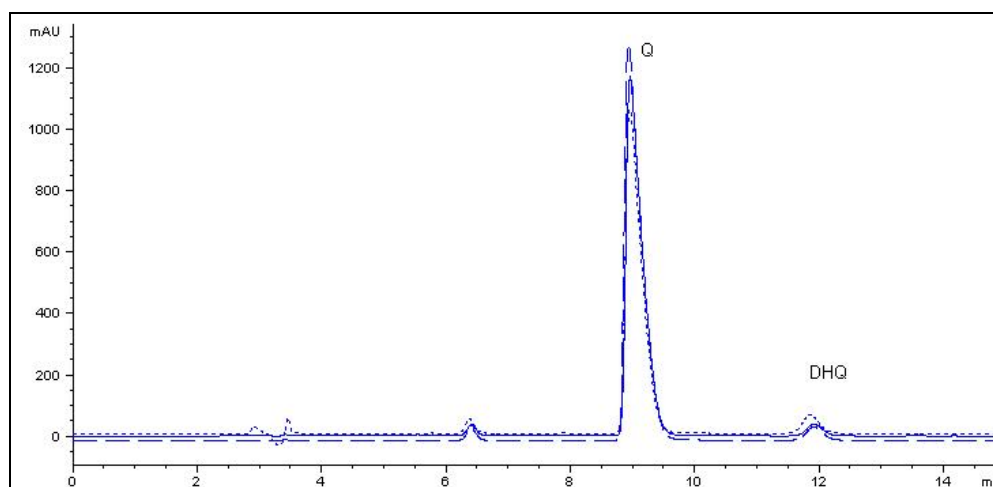


Figura 20 – Sobreposição dos cromatogramas do padrão de quinina e de amostras dos dois lotes analisados (Q = quinina; DHQ = diidroquinina).

Seria esperado que os problemas encontrados no teste de determinação de peso fossem refletidos no cálculo da uniformidade de doses unitárias pelo método de variação de peso, já que este método leva em consideração a distribuição homogênea do fármaco analisado em relação ao peso individual dos comprimidos. No entanto, a maioria dos teores individuais calculados estavam de acordo com a especificação da F.Bras.IV, 85% a 115% com DPR inferior a 6%. Na amostra da região C₂, a unidade que apresentou 84,69% na variação de peso é aquela que teve desvio de -9,32% na determinação de peso. A repetição do teste com as 10

unidades restantes do teste de determinação de peso mostrou valores dentro da faixa especificada pela F.Bras.IV.

Os problemas apresentados pelas amostras de comprimidos de quinina estão claramente relacionados ao processo de fabricação deste medicamento. Os controles em processo realizados durante a fase de compressão devem ser revisados de modo a não permitir que os comprimidos apresentem desvios em relação ao peso médio superiores aos especificados pela Farmacopéia Brasileira.

Tabela 31 – Resultados dos testes realizados com amostras de comprimidos de sulfato de quinina por local de armazenamento.

Quinina - 500 mg - Lotes 05001022 e 05004103															
Região	Determinação de peso				Friab. (%)	Desint. (min)	Dureza (kgf)	Diss. (%)	Un. Diss.	Uniformidade de doses unitárias				Teor (%)	Observações
	Média (mg)	Inf. (%)	Sup. (%)	Sup. (%)						Inf. (%)	Sup. (%)	DPR (%)			
A	666,01	-5,17	10,80	0,21	8	9,75	93,19	6	92,47	104,58	3,52	94,39	L022 1 cp com o dobro do desvio.		
	677,84	-4,13	5,51	0,36	4	8,40	90,63	6	90,34	97,65	2,67	94,23	L103		
B_{ES}	708,25	-7,45	2,60	0,44	6	8,18	89,84	6	91,01	94,70	1,39	92,30	L022		
B₁	712,19	-3,28	3,12	0,34	6	8,45	88,73	6	90,48	96,47	2,17	93,55	L022		
B₂	708,91	-5,33	3,34	0,88	7	7,65	89,14	6	90,61	95,35	1,62	92,84	L022		
C_{ES}													Amostra extraviada		
C₁	668,36	-3,53	6,83	0,19	5	9,28	91,80	6	91,15	100,43	2,96	94,02	L103		
C₂	671,39	-9,32	6,21	0,23	4	10,28	92,28	6	84,69	95,96	3,53	93,39	3 unidades com desvio maior de 5%		
D_{ES}	715,49	-2,81	4,92	0,30	8	9,48	85,44	12	90,92	95,28	1,56	93,50	L022		
D₁	708,49	-4,78	2,48	0,24	8	10,20	87,93	12	88,56	95,32	2,30	93,01	L022		
D₂	708,59	-7,70	2,11	0,22	8	8,28	87,55	12	86,06	95,21	2,87	93,24	L022		

5 CAPÍTULO II: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA A DETERMINAÇÃO DE CLORIDRATO DE MEFLOQUINA EM COMPRIMIDOS

5.1 Materiais e métodos

5.1.1 Materiais

5.1.1.1 Substâncias químicas de referência e amostras

Cloridrato de mefloquina SQR disponibilizado pela Farmacopéia Americana (USP) lote F0E165 com validade indeterminada e teor de 100,0%; comprimidos contendo 250 mg de mefloquina (274,09 mg de cloridrato de mefloquina) lote 0603030 com validade até março/2009; matéria prima de cloridrato de mefloquina fabricada pela Gen, lote 13605 com validade até dezembro/2008 e teor de 97,5% tal qual.

5.1.1.2 Reagentes e vidraria

- Água ultra-pura.
- Solventes e reagentes grau analítico: fosfato monobásico de potássio, ácido fosfórico.
- Pipetas e balões volumétricos calibrados.
- Béqueres, erlenmeyers e kit de filtração.
- Membrana de celulose regenerada SARTORIUS com diâmetro de 47 mm e poros de 0,45 μm .
- Dispositivos filtrantes de celulose regenerada MINISART 15 mm x 0,45 μm .
- Ponteiros para uso com pipetas automáticas.

5.1.1.3 Equipamentos

- Aparato para fotólise (Figura 21).
- Aparelho de ultra-som UNIQUE 1400.
- Balança analítica SARTORIUS com precisão de 0,01 mg modelo BP210D.

- Coluna cromatográfica Xterra WATERS C₁₈, 250 x 4,6 mm, 5 µm.
- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência AGILENT 1200 equipado com degaseificador, bomba quaternária, forno de colunas, injetor automático e detector de arranjo de diodos (DAD) na região do ultravioleta e visível.
- Espectrofotômetro de absorção no ultravioleta-visível HEWLETT PACKARD 8453.
- Lâmpada ultravioleta (comprimento de onda máximo de 253,7 nm) PHILIPS TUV 15W G15T8.
- Pipetas automáticas calibradas BRAND TRANSFERPETTE.
- Potenciômetro METROHM 827 pH Lab.
- Sistema de purificação de água MILIPORE MILLI-Q-PLUS.

5.1.2 Métodos

5.1.2.1 Seleção e otimização das condições cromatográficas

Para estabelecer as melhores condições cromatográficas para a eluição do cloridrato de mefloquina, em modo isocrático, realizou-se, inicialmente, um gradiente exploratório amplo.

Esta corrida cromatográfica em gradiente foi realizada segundo descrito por SNYDER e colaboradores (1997) utilizando as condições cromatográficas descritas na Tabela 32. Para estabelecer um branco do gradiente, o procedimento também foi realizado sem a injeção da solução de cloridrato de mefloquina (0,1 mg/ml).

Tabela 32 – Condições cromatográficas para a corrida exploratória em gradiente para cloridrato de mefloquina.

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/l	Pesar 6,80 g de KH ₂ PO ₄ e completar para 1000 ml com água ultra-pura. Ajustar o pH para 3,0 com ácido fosfórico.
Fase móvel e gradiente	Metanol:tampão fosfato de potássio monobásico (5:95). Gradiente de metanol de 5% a 100% em 60 minutos.
Fluxo da fase móvel	1 ml/min
Volume de injeção	20 µl
Coluna	Xterra C ₁₈ 250 x 4,6 mm, 5 µm
Temperatura da coluna	30 °C
Comprimentos de onda de detecção	222 nm, 283 nm com aquisição dos espectros na região do UV
Solução de cloridrato de mefloquina	0,1 mg/ml em mistura de metanol:tampão fosfato (5:95)
Tempo de corrida	60 minutos

Com base no tempo de retenção apresentado pelo cloridrato de mefloquina nas condições descritas na Tabela 32 e os dados de comportamento cromatográfico desta substância utilizando tampões de diferentes valores de pH, entre 2,5 e 7,0 (GREEN *et al.*, 1999), foram estabelecidas condições cromatográficas que permitissem a sua determinação em modo isocrático. As condições estabelecidas foram as descritas na Tabela 33, também utilizadas para a demonstração de seletividade do método.

Tabela 33 – Condições cromatográficas utilizadas no estudo de seletividade para a determinação de cloridrato de mefloquina em modo isocrático

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/l	Pesar 6,80 g de KH_2PO_4 e completar para 1000 ml com água ultra-pura. Ajustar o pH para 3,5 com ácido fosfórico.
Fase móvel	Metanol:tampão fosfato de potássio monobásico (65:35).
Fluxo da fase móvel	1 ml/min
Volume de injeção	20 μl
Coluna	Xterra C_{18} 250 x 4,6 mm, 5 μm
Temperatura da coluna	30 °C
Comprimento de onda de detecção	222 nm, 283 nm com aquisição dos espectros na região do UV
Concentração de trabalho	0,1 mg/ml de cloridrato de mefloquina
Tempo de corrida	10 minutos

5.1.2.2 Seletividade

Para demonstrar a seletividade do método, procurou-se avaliar a estabilidade intrínseca do cloridrato de mefloquina frente a condições de estresse (hidrólise ácida, hidrólise alcalina, hidrólise neutra e oxidação) e posteriormente, a sua fotoestabilidade. Ainda, foi avaliada a capacidade do método analítico de separar, com resolução satisfatória, o pico referente ao cloridrato de mefloquina dos picos de substâncias com estrutura química relacionada como difosfato de cloroquina, sulfato de quinina e difosfato de primaquina.

5.1.2.2.1 Estabilidade do cloridrato de mefloquina frente a condições de estresse

O estudo da estabilidade do cloridrato de mefloquina frente às condições de hidrólise e oxidação foi adaptado do estudo com a glimepirida de KOVARIKOVA e colaboradores (2004).

Foi preparada uma solução estoque contendo 0,2 mg/ml de cloridrato de mefloquina em metanol. Desta solução, foram preparados tubos de ensaio conforme descrito na Tabela 34. Foram preparados, também, tubos contendo 5 ml de metanol ao invés da solução estoque, a fim de servirem de branco da reação.

Tabela 34 – Preparo das soluções para o estudo de estabilidade intrínseca do cloridrato de mefloquina.

<i>Tubos</i>	<i>Conteúdos</i>
1	5 ml da solução estoque + 5 ml de ácido clorídrico 0,2 mol/l
2	5 ml da solução estoque + 5 ml de hidróxido de sódio 0,2 mol/l
3	5 ml da solução estoque + 5 ml de água ultra-pura
4	5 ml da solução estoque + 5 ml de peróxido de hidrogênio 4% (V/V)

Os tubos foram mantidos em banho-maria a 60 °C com agitação magnética por 9 horas. Foram retiradas dos tubos, alíquotas de 1 ml, nos tempos 0, 1, 2, 3, 6 e 9 horas que foram transferidas para *vial*. Foi feita uma injeção de cada coleta, utilizando as condições cromatográficas descritas na Tabela 33. Nestes cromatogramas, o pico referente ao cloridrato de mefloquina deve se apresentar separado de quaisquer outros picos presentes, com resolução (R) mínima de 2,0.

5.1.2.2.2 Fotoestabilidade do cloridrato de mefloquina

Os produtos de fotólise do cloridrato de mefloquina foram elucidados por TONNESEN (1999). Para a demonstração da seletividade do método analítico em relação aos produtos de fotólise do cloridrato de mefloquina, foi realizado um experimento de degradação fotolítica de uma solução aquosa de cloridrato de mefloquina utilizando um aparato especial (Figura 21).

Foram preparadas 50 ml de uma solução estoque contendo 0,1 mg/ml de cloridrato de mefloquina em água ultra-pura. Logo após a preparação, 1 ml desta solução foi transferida para *vial* e este foi coberto com papel alumínio, a fim de impedir o seu contato com a luz. O restante da solução foi transferido para o aparato. Alíquotas de 1 ml foram retiradas após 30 minutos e 1, 2, 4, 6 e 8 horas após o início da reação. Estas alíquotas também foram transferidas para *vial* e cobertas com papel alumínio até o momento da injeção no cromatógrafo, realizada no dia seguinte ao experimento. Cada amostra foi injetada uma vez, nas condições descritas na Tabela 33.

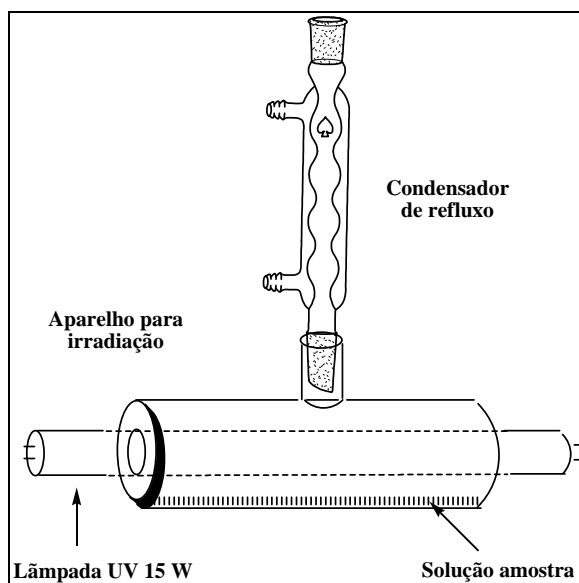


Figura 21 – Desenho esquemático do aparato utilizado para a fotólise do cloridrato de mefloquina

Para a melhor separação dos picos, foram feitos ajustes na porcentagem do modificador orgânico (metanol) da fase móvel utilizada. As proporções de metanol foram alteradas até que se conseguisse a separação do pico de cloridrato de mefloquina dos picos dos produtos de fotólise. Novo estudo de fotólise foi realizado com coletas de amostras nos tempos zero, 4, 8 e 12 horas de reação. Espectros no ultravioleta destas soluções foram traçados com o auxílio de um espectrofotômetro, na faixa de comprimentos de onda de 200 a 400 nm.

Novas condições cromatográficas (Tabela 35) foram utilizadas com as amostras do segundo estudo de fotólise e no seguimento do processo de validação do método analítico. Outras condições cromatográficas foram testadas para a separação do pico de mefloquina dos produtos de fotólise e destes entre si, visando a sua identificação e avaliação da extensão da degradação.

Tabela 35 – Condições cromatográficas otimizadas para a determinação de cloridrato de mefloquina, na presença dos produtos de fotólise, em modo isocrático.

<i>Parâmetros</i>	<i>Condições</i>
Tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/l	Pesar 6,80 g de KH_2PO_4 e completar para 1000 ml com água ultra-pura. Ajustar o pH para 3,5 com ácido fosfórico.
Fase móvel	Metanol:tampão fosfato de potássio monobásico (60:40).
Fluxo da fase móvel	1 ml/min
Volume de injeção	20 μl
Coluna	Xterra C_{18} 250 x 4,6 mm, 5 μm
Temperatura da coluna	30 °C
Comprimento de onda de detecção	222 nm, 283 nm com aquisição dos espectros na região do UV
Concentração de trabalho	0,1 mg/ml de cloridrato de mefloquina
Tempo de corrida	12 minutos

5.1.2.2.3 Seletividade do método frente às substâncias estruturalmente relacionadas ao cloridrato de mefloquina

Para a determinação da seletividade do método proposto frente às substâncias estruturalmente relacionadas ao cloridrato de mefloquina, primeiramente, foram feitas preparações individuais com as matérias primas de cloridrato de mefloquina, difosfato de cloroquina, sulfato de quinina e difosfato de primaquina, na concentração de 0,1 mg/ml em fase móvel. Estas soluções foram injetadas, individualmente, no cromatógrafo, nas condições descritas na Tabela 35. Foram observados os tempos de retenção de cada pico e os respectivos espectros na região do ultravioleta. Em seguida, foi preparada uma solução em fase móvel contendo, simultaneamente, 0,1 mg/ml dos quatro fármacos (mefloquina, cloroquina, primaquina e quinina). Esta solução foi injetada no cromatógrafo e foram avaliados os tempos de retenção, a resolução e os espectros na região do ultravioleta referentes aos picos das quatro substâncias.

5.1.2.3 Linearidade

Para a construção da curva analítica, foi preparada uma solução estoque de cloridrato de mefloquina matéria-prima na concentração de 0,625 mg/ml em metanol. Foram feitas diluições em fase móvel a partir da solução estoque para obter a faixa de concentração desejada de 50 a 150% da concentração de trabalho. As diluições foram feitas em triplicata, totalizando 15 soluções, conforme apresentado na Tabela 36.

Tabela 36 – Preparo das soluções de cloridrato de mefloquina para avaliação da linearidade do método para doseamento por CLAE

<i>Volume de solução estoque (ml)</i>	<i>Fase móvel q.s.p. (ml)</i>	<i>Concentração (µg/ml)</i>	<i>Nível de concentração*</i>
2,0	25,0	50	50%
3,0	25,0	75	75%
4,0	25,0	100	100%
5,0	25,0	125	125%
6,0	25,0	150	150%

* em relação à concentração de trabalho

Em seguida, as soluções foram filtradas, transferidas para *vials* e injetadas uma vez no cromatógrafo, utilizando-se as condições cromatográficas descritas na Tabela 35 e detecção em 283 nm somente. Uma das soluções correspondente a 100% da concentração de trabalho foi injetada 5 vezes para a verificação da adequabilidade do sistema.

A curva analítica foi construída com os valores de área dos picos de mefloquina obtidos em cada nível de concentração. O gráfico da curva analítica foi examinado visualmente e a regressão linear foi calculada pelo método dos mínimos quadrados, utilizando-se o software GraphPad Prism versão 4.0 (GraphPad Software Inc.). Foram avaliados o coeficiente de determinação (R^2), o intercepto com o eixo Y e a distribuição dos resíduos.

5.1.2.4 Precisão intra-ensaio e precisão inter-ensaios

A avaliação da precisão intra-ensaio foi realizada pela preparação de 6 amostras a 100% da concentração de trabalho. A precisão inter-ensaios foi realizada pela repetição deste procedimento no dia seguinte. Os resultados foram agrupados e calculou-se o desvio padrão relativo (DPR) das 12 determinações.

O peso médio de 20 comprimidos foi determinado e estes foram triturados. Pesou-se, do pó dos comprimidos, o equivalente a 100 mg de cloridrato de mefloquina e transferiu-se para balões volumétricos de 100 ml. Foram adicionados cerca de 80 ml de metanol e os balões foram levados a banho de ultra-som por 10 minutos. Em seguida, os volumes dos balões foram completados com metanol e homogeneizados. As soluções foram filtradas, descartando-se os primeiros 10 ml do filtrado. Transferiram-se 5 ml do filtrado para balões

volumétricos de 50 ml e o volume foi completado com fase móvel. As soluções, na concentração de 0,1 mg/ml de cloridrato de mefloquina, foram transferidas para *vials* e injetadas uma vez no cromatógrafo.

A solução padrão foi preparada em duplicata (soluções padrão 1 e 2) pesando-se exatamente cerca de 10 mg de cloridrato de mefloquina SQR e transferindo-se para balão volumétrico de 100 ml. Foram adicionados cerca de 80 ml de fase móvel e os balões foram levados a banho de ultra-som por 10 minutos. O volume foi completado com fase móvel e agitou-se até homogeneização. As soluções, na concentração de 0,1 mg/ml de cloridrato de mefloquina, foram transferidas para *vials* e injetadas no cromatógrafo. A solução padrão 1 foi injetada 5 vezes para a verificação da adequabilidade do sistema e a solução padrão 2 foi injetada 3 vezes. Os fatores de resposta das duas soluções padrão foram comparados.

Os teores de cloridrato de mefloquina nos comprimidos foram calculados a partir das áreas dos picos obtidos com as soluções padrão e amostra.

5.1.2.5 Exatidão

A determinação da exatidão foi realizada em 3 níveis de concentração com a adição de quantidades de cloridrato de mefloquina matéria-prima a uma quantidade conhecida de amostra de comprimidos.

Foram pesados e pulverizados 20 comprimidos e calculou-se o peso médio. Transferiu-se, em duplicata, quantidade do pó dos comprimidos, equivalente a 60 mg de cloridrato de mefloquina para balões volumétricos de 100 ml e acrescentaram-se cerca de 80 ml de metanol. Os balões foram levados a banho de ultra-som por 10 minutos. O volume foi completado com metanol e as soluções foram filtradas, descartando-se os 10 primeiros ml do filtrado. Foram transferidos 5 ml do filtrado para balões volumétricos de 50 ml e o volume foi completado com fase móvel. As soluções, contendo 60 µg/ml de cloridrato de mefloquina, foram transferidas para *vials* e injetadas uma vez no cromatógrafo.

As soluções fortificadas correspondentes a 75%, 100% e 125% da concentração de trabalho foram preparadas pesando-se, em triplicata, as quantidades indicadas na Tabela 37 e transferindo-se para balões volumétricos de 100 ml. Foram acrescentados cerca de 80 ml de

metanol e os balões foram levados a banho de ultra-som por 10 minutos. Completou-se o volume com metanol e as soluções foram filtradas, descartando-se os 10 primeiros ml do filtrado. Transferiram-se 5 ml de cada filtrado para balões volumétricos de 50 ml e o volume foi completado com fase móvel. As soluções diluídas foram transferidas para *vials* e injetadas uma vez no cromatógrafo.

Tabela 37 – Preparo das soluções fortificadas de cloridrato de mefloquina para avaliação da exatidão do método para doseamento por CLAE

<i>Nível de concentração</i>	<i>mg de cloridrato de mefloquina da amostra</i>	<i>mg de cloridrato de mefloquina da matéria prima</i>	<i>Concentração esperada (µg/ml)</i>
75%	60	15	75
100%	60	40	100
125%	60	65	125

A solução padrão foi preparada em duplicata (soluções padrão 1 e 2) pesando-se cerca de 10 mg de cloridrato de mefloquina matéria-prima e transferindo-se para balões volumétricos de 100 ml. Foram adicionados cerca de 80 ml de fase móvel e os balões foram levados a banho de ultra-som por 10 minutos. O volume foi completado com fase móvel, homogeneizou-se, e as soluções foram transferidas para *vials*. A solução padrão 1 foi injetada 5 vezes para a verificação da adequabilidade do sistema e a solução padrão 2 foi injetada 3 vezes. Os fatores de resposta das duas soluções padrão foram comparados.

As porcentagens de recuperação foram calculadas pela relação entre a concentração obtida experimentalmente e a concentração teórica de cloridrato de mefloquina nas soluções fortificadas.

5.1.2.6 Limite de detecção e limite de quantificação

Primeiramente, o limite de detecção foi estimado pela equação estabelecida pelo ICH (INTERNATIONAL, 2005) descrita a seguir,

$$LD = \frac{3.3\sigma}{S}$$

onde σ corresponde ao desvio padrão da resposta na curva analítica e S é o valor da inclinação da mesma curva. Foi preparada uma solução em fase móvel de cloridrato de mefloquina na concentração calculada e depois foram feitas diluições até que se obtivesse uma relação sinal/ruído de aproximadamente 3 vezes (SNYDER *et al.*, 1997).

O limite de quantificação foi determinado de maneira similar. Foi utilizada a seguinte equação estabelecida pelo ICH (INTERNATIONAL, 2005):

$$LQ = \frac{10\sigma}{S}$$

Os termos da equação são os mesmos descritos anteriormente. Foi preparada uma solução em fase móvel de cloridrato de mefloquina na concentração calculada e em seguida foram feitas diluições até que se obtivesse uma relação sinal/ruído de aproximadamente 10 vezes (SNYDER *et al.*, 1997). Esta solução foi injetada 5 vezes no cromatógrafo para a verificação do desvio padrão relativo das áreas obtidas para o pico de cloridrato de mefloquina.

5.1.2.7 Robustez e adequabilidade do sistema

A robustez do método analítico foi avaliada modificando-se deliberadamente as condições cromatográficas e verificando-se a sua influência nos resultados apresentados. Foram preparadas 6 amostras e duas soluções padrão conforme descrito em 5.1.2.4. Os parâmetros modificados foram os descritos na Tabela 38.

Tabela 38 – Condições cromatográficas utilizadas para a avaliação da robustez do método por CLAE

Parâmetros/Condições	Nominal	1	2	3	4	5	6	7	8
% Metanol	60	57	63	60	60	60	60	60	60
Fluxo (ml/min)	1,0	1,0	1,0	0,9	1,1	1,0	1,0	1,0	1,0
Temperatura (°C)	30	30	30	30	30	25	35	30	30
pH da fase móvel	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5	3,0	4,0

A partir dos resultados de teor de cloridrato de mefloquina obtidos, foi feita uma análise de variância (ANOVA) e comparação de médias pelo teste de Tukey, a fim de verificar a influência de cada parâmetro na resposta fornecida pelo método analítico.

Para a avaliação da adequabilidade do sistema, foram utilizados os seguintes parâmetros: fator de cauda (T), fator de retenção (k), número de pratos teóricos e áreas dos picos de cloridrato de mefloquina. Estes parâmetros foram avaliados nos cromatogramas das cinco injeções das soluções padrão em cada condição descrita na Tabela 38.

5.1.2.8 Comparação entre os métodos cromatográfico e espectrofotométrico para determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos

O método para determinação de teor de cloridrato de mefloquina em comprimidos por CLAE foi comparado ao método espectrofotométrico desenvolvido por RAO & MURTHY (2002) que foi convalidado conforme descrito em 4.1.2.6.

Foram pesados e pulverizados 20 comprimidos e calculou-se o peso médio. Do pó dos comprimidos, foram pesados, em sextuplicata, o equivalente a 100 mg de cloridrato de mefloquina e transferiu-se para balões volumétricos de 100 ml. Foram acrescentados cerca de 80 ml de metanol e os balões foram levados a banho de ultra-som por 10 minutos. Completou-se o volume com metanol e filtrou-se, descartando os primeiros 10 ml do filtrado. As soluções diluídas das amostras para leitura no espectrofotômetro e injeção no cromatógrafo foram preparadas conforme a Tabela 39.

As soluções padrão foram preparadas em duplicata (soluções padrão 1 e 2) pesando-se exatamente cerca de 25 mg de cloridrato de mefloquina e transferindo-se para balões de 25 ml. Foram acrescentados cerca de 15 ml de metanol e os balões foram levados a banho de ultra-som por 10 minutos. O volume foi completado com metanol. A preparação das soluções diluídas do padrão para uso no espectrofotômetro e no cromatógrafo líquido está descrita na Tabela 39.

Tabela 39 – Preparo de soluções para a comparação entre os métodos espectrofotométrico e por CLAE para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos.

<i>Solução/Método</i>	<i>Volume da solução estoque (ml)</i>	<i>Volume final (ml)</i>	<i>Solvente</i>	<i>Concentração final (µg/ml)</i>
Padrão/CLAE	5,0	50,0	Fase móvel	100
Amostra/CLAE	5,0	50,0	Fase móvel	100
Padrão/UV	2,0	50,0	Metanol	40
Amostra/UV	2,0	50,0	Metanol	40

A solução padrão 1 foi injetada 5 vezes no cromatógrafo, para verificação da adequabilidade do sistema. A solução padrão 2 foi injetada 3 vezes no cromatógrafo e as soluções amostra uma vez apenas. Foram realizadas leituras das soluções padrão 1, 2 e das amostras no espectrofotômetro em 283 nm utilizando metanol para ajuste do zero. Os doze resultados de teor de cloridrato de mefloquina (seis pelo método UV e seis pelo método CLAE) foram comparados estatisticamente por teste t.

5.1.2.9 Determinação de teor de cloridrato de mefloquina nos comprimidos da avaliação da qualidade de antimaláricos no sistema único de saúde – SUS

O teor de cloridrato de mefloquina nos comprimidos da avaliação da qualidade de antimaláricos foi determinado utilizando-se o método analítico por CLAE desenvolvido. Foram preparadas duas soluções padrão e, para as amostras, duas soluções para cada local de armazenamento (A, B, C e D).

As soluções padrão (1 e 2) foram preparadas pesando-se exatamente cerca de 10 mg de cloridrato de mefloquina e transferindo para balões volumétricos de 100 ml. Foram adicionados cerca de 80 ml de metanol e os balões foram levados a banho de ultra-som por 10 minutos. O volume foi completado com metanol e as soluções foram transferidas para *vials* para injeção no cromatógrafo. A solução padrão 1 foi injetada 5 vezes no cromatógrafo para a verificação da adequabilidade do sistema e a solução padrão 2 foi injetada 3 vezes.

Foram triturados 10 comprimidos de cada local de armazenamento (A, B_{ES}, B₁, B₂, C₁, C₂, D_{ES}, D₁ e D₂). As soluções amostra foram preparadas pesando-se o equivalente a 100 mg de cloridrato de mefloquina do pó dos comprimidos e transferindo para balões volumétricos de 100 ml. Foram acrescentados cerca de 80 ml de metanol e os balões foram levados a banho de ultra-som por 10 minutos. O volume foi completado com metanol e os balões foram homogeneizados. Filtrou-se, descartando os primeiros 10 ml do filtrado. Transferiram-se 5 ml do filtrado para balões volumétricos de 50 ml e o volume foi completado com fase móvel. As soluções foram transferidas para *vials* e injetadas 1 vez no cromatógrafo.

Os teores de cloridrato de mefloquina nos comprimidos da avaliação da qualidade de antimaláricos foram calculados a partir das respostas obtidas com as soluções padrão e

amostra. Os valores calculados pelo método de CLAE foram comparados com aqueles obtidos pelo método espectrofotométrico.

5.1.2.10 Cálculos dos parâmetros cromatográficos

Os parâmetros cromatográficos como tempo morto, fator de retenção, número de pratos, resolução entre picos e outros foram calculados conforme os termos e fórmulas relacionados na Tabela 40 e a representação gráfica da Figura 22 e Figura 23.

Tabela 40 – Símbolos e fórmulas utilizados nos cálculos dos parâmetros cromatográficos (SNYDER *et al.*, 1997; THE UNITED, 2006)

Símbolos	Parâmetros
t_0	Tempo do volume morto: tempo necessário para que um composto que não seja retido pela coluna alcance o detector.
t_r	Tempo de retenção: tempo necessário para que o analito percorra o trajeto injetor-coluna-detector. Fator de retenção: retenção do analito expressa como o número de volumes mortos.
k	$k = \frac{t_r - t_M}{t_M}$
α	Fator de separação: razão entre dois fatores de retenção $\alpha = \frac{k_2}{k_1}$
W	Largura do pico: distância entre as duas tangentes às laterais do pico, medida à linha de base.
$W_{h/2}$	Largura a meia altura: distância entre as duas tangentes às laterais do pico, medida à meia altura.
$W_{0.05}$	Largura a 5% da altura: distância entre as duas tangentes às laterais do pico, medida a 5% da altura.
R	Resolução: grau de separação entre picos adjacentes $R = \frac{1,18(t_2 - t_1)}{W_{1,h/2} + W_{2,h/2}}$
N	Número de pratos: medida da eficiência da coluna. $N = 5,54 \left(\frac{t_r}{W_{h/2}} \right)^2$
f	Distância da tangente esquerda até a linha perpendicular que liga o ápice do pico à linha de base Fator de cauda – compara a largura do pico a 5% da sua altura com a frente do pico (f)
T	$T = \frac{W_{h/2}}{2f}$

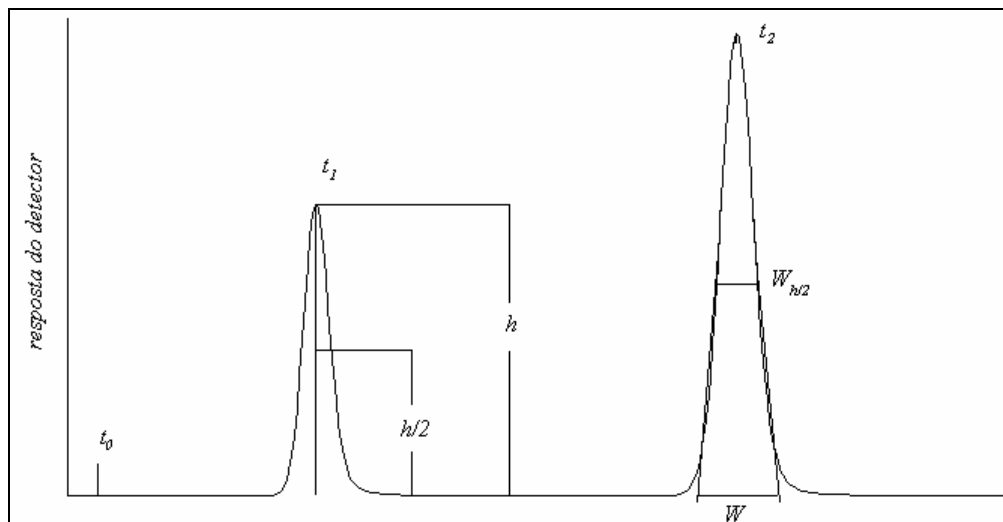


Figura 22 – Separação cromatográfica de duas substâncias

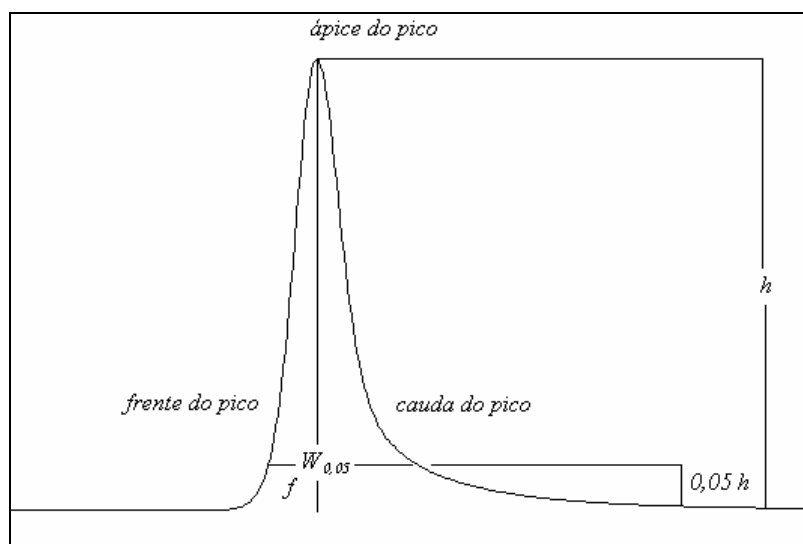


Figura 23 – Pico cromatográfico assimétrico

5.2 Resultados e discussão

5.2.1 Seleção e otimização das condições cromatográficas

Com o gradiente exploratório amplo o pico de cloridrato de mefloquina apresentou tempo de retenção de aproximadamente 40 minutos (Figura 24)

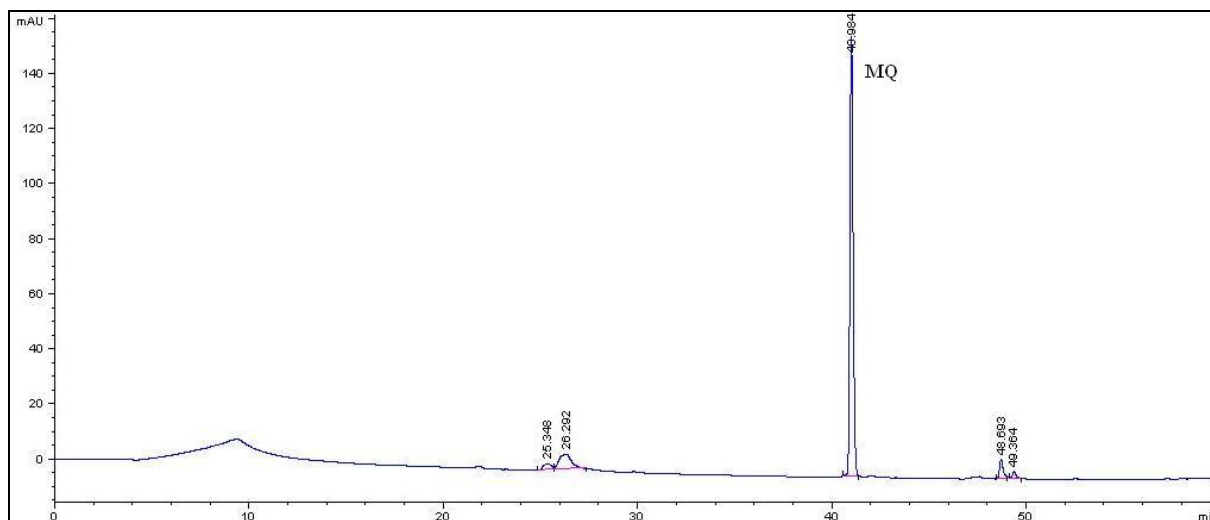


Figura 24 – Cromatograma do gradiente exploratório amplo para cloridrato de mefloquina - MQ ($t_r = 40,984$ min; detecção $\lambda = 283$ nm)

Os picos com tempo de retenção em torno de 25 e 48 minutos também apareceram quando se fez corrida em branco do gradiente.

Após o resultado do gradiente exploratório amplo e a constatação de apenas um pico relativo ao cloridrato de mefloquina com tempo de retenção (t_r) de cerca de 40 minutos, utilizou-se a Tabela 41 para determinar a porcentagem de metanol mais adequada para a eluição isocrática que resultasse em um pico com fator de retenção (k) entre 5 e 10.

Tabela 41 – Estimativa da porcentagem de modificador orgânico para uma corrida cromatográfica em modo isocrático baseada no tempo de retenção do pico obtido em uma corrida exploratória em gradiente (SNYDER *et al.*, 1997)

<i>t_r</i> do último pico do gradiente	Estimativa da porcentagem de modificador orgânico		
	<i>k</i> = 5	<i>k</i> = 10	<i>k</i> = 20
5	6	0	---
10	19	12	5
15	29	22	14
20	37	30	22
25	45	38	30
30	53	46	38
35	61	54	46
40	69	62	54
45	77	70	62
50	85	78	70
55	93	86	78
60	100	94	86
65	---	100	94

A porcentagem de metanol selecionada foi 65%, e uma corrida cromatográfica foi realizada utilizando metanol:tampão pH 3,0 (65:35) para confirmar a escolha (Figura 25). Foi observado um pico referente ao cloridrato de mefloquina com tempo de retenção de 5,687 minutos (fator de retenção de 1,28). De fato, o objetivo de manter o fator de retenção entre 5 e 10 não foi cumprido, mas, dado o tempo do volume morto observado em torno de 2,5 minutos, as corridas levariam um tempo excessivo de 12,5 a 25 minutos. Ainda, a seletividade do método para o cloridrato de mefloquina estava para ser demonstrada e ajustes posteriores na força eluente da fase móvel teriam de ser feitos.

Ainda, as condições utilizadas por SNYDER e colaboradores (1997) para o estabelecimento da Tabela 41, foram diferentes daquelas utilizadas neste trabalho (Tabela 32): poderia ter sido usada coluna C₈ ou C₁₈ de 15 cm de comprimento com fluxo da fase móvel de 2 ml/min e acetonitrila como modificador orgânico. Posteriormente, o mesmo autor recomenda que, para substâncias iônicas, seja utilizado um gradiente de metanol e tampão, semelhante ao que foi realizado neste trabalho.

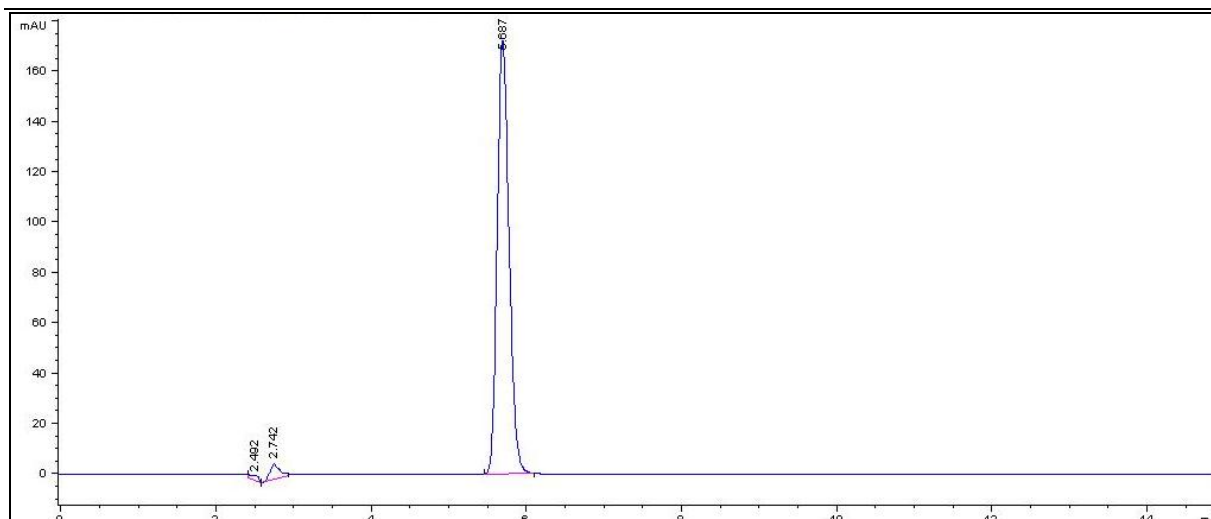


Figura 25 – Cromatograma da eluição em modo isocrático do cloridrato de mefloquina ($t_r = 5,987$ min; $k = 1,28$). Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,0 (65:35); fluxo 1,0 ml/min; coluna C_{18} a 30°C ; detecção $\lambda = 283$ nm.

No estudo desenvolvido por GREEN e colaboradores (1999), foram testadas várias soluções tampão com valores de pH desde 2,5 até 7,0 e registrou-se o tempo de retenção que o pico de cloridrato de mefloquina apresentou em cada condição. Foram utilizadas duas colunas cromatográficas, uma com maior e outra com menor atividade de silanóis livres. Os autores verificaram que o tempo de retenção do cloridrato de mefloquina não se modificava com valores de pH da solução tampão entre 2,5 e 4,5 nas duas colunas (Figura 26).

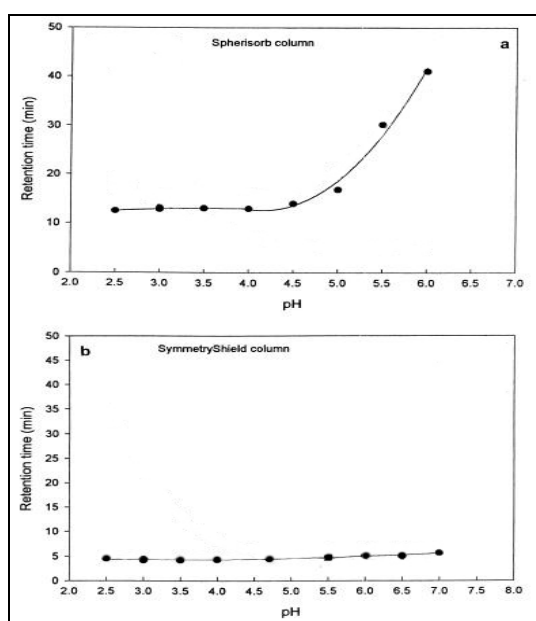


Figura 26 – Variação do tempo de retenção do cloridrato de mefloquina em função do pH do tampão da fase móvel utilizando-se duas colunas cromatográficas. (Adaptado de GREEN *et al.*, 1999)

Desta forma, o pH da solução tampão do método em desenvolvimento foi alterado de 3,0 para 3,5 pois a retenção do pico de cloridrato de mefloquina não seria alterada e ainda seria evitado o uso de tampões fosfato de valores de pH baixos com colunas de fase ligada à sílica.

5.2.2 Seletividade

5.2.2.1 Estabilidade do cloridrato de mefloquina frente a condições de estresse

Os cromatogramas foram obtidos com detecção em comprimento de onda de 222 nm, região menos seletiva, apropriado para a detecção de compostos de natureza química diversa, incluindo prováveis produtos de degradação da mefloquina que mantenham o anel quinolínico, pela grande absorvidade apresentada. O uso de comprimentos de onda próximos a 200 nm é adequado para a detecção da maioria dos compostos orgânicos (BERRY, 1982)

A degradação em meio ácido revelou o aparecimento de um pico próximo ao tempo do volume morto ($t_r = 2,924$ min; $k = 0,19$) na amostra retirada com uma hora de experimento, com resolução satisfatória em relação ao pico de cloridrato de mefloquina ($t_r = 6,111$ min; $k = 1,49$). Este fato é ilustrado na Figura 27, onde é feita uma ampliação da sobreposição do branco utilizando ácido clorídrico, e da amostra, contendo cloridrato de mefloquina, coletada com 9 horas de experimento contendo cloridrato de mefloquina. Este pico foi observado na amostra retirada com uma hora de experimento (Área = 12,8 mAU.s) e persistiu, em função do tempo, aumentando o seu valor de área, até o final do experimento com 9 horas (Área = 58,4 mAU.s).

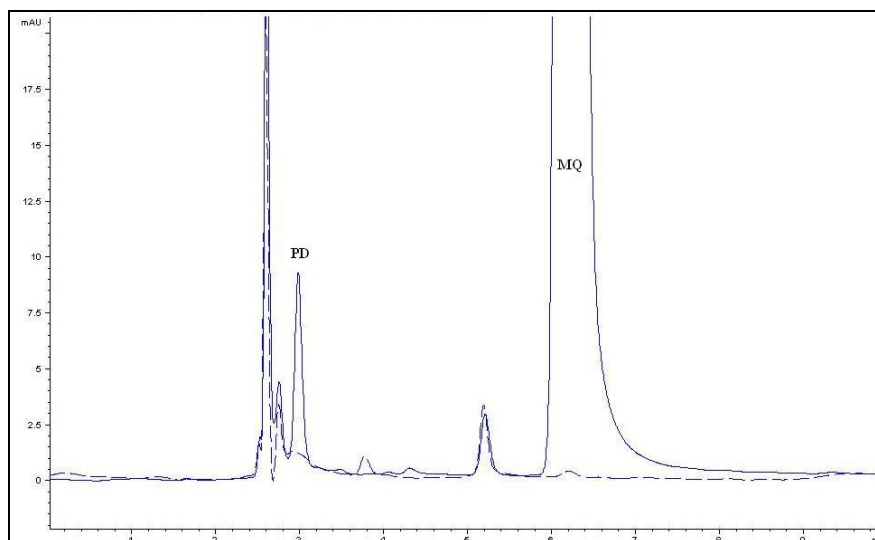


Figura 27 – Ampliação da sobreposição do cromatograma do branco com ácido clorídrico (tracejado) e do cromatograma da amostra contendo cloridrato de mefloquina (MQ) retirada em 9 horas de reação (linha cheia). (PD = produto de degradação)

A degradação em meio alcalino (Figura 28) também revelou um pico de intensidade pequena próximo ao tempo do volume morto, porém com tempo e fator de retenção diferente daquele observado no tubo com ácido clorídrico ($t_r = 3,123$ min; $k = 0,27$). Este pico também teve sua intensidade aumentada com o passar do tempo (Área = 9,8 mAU.s em 1h; Área = 48,6 mAU.s em 9h), estando também com resolução de linha de base visível em relação ao pico de cloridrato de mefloquina ($t_r = 6,166$ min; $k = 1,50$).

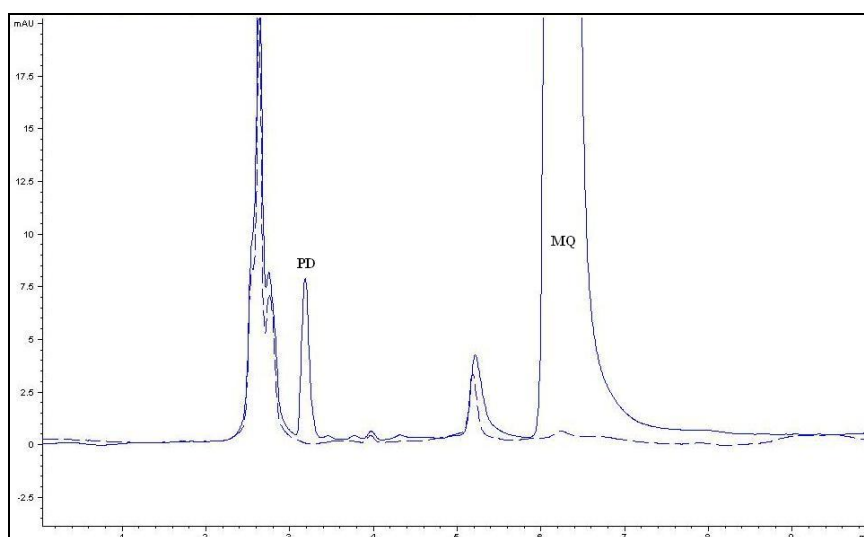


Figura 28 – Ampliação da sobreposição do cromatograma do branco com hidróxido de sódio (tracejado) e do cromatograma da amostra contendo cloridrato de mefloquina (MQ) retirada em 9 horas de reação (linha cheia). (PD = produto de degradação)

No experimento de hidrólise neutra (Figura 29) também foi observado um pico de pequena intensidade próximo ao tempo do volume morto ($t_r = 2,943$ min; $k = 0,19$). A área deste pico aumenta com o tempo de experimento (Área = 33,2 mAU.s em 1h; Área = 96,2 mAU.s em 9h), e este pico também está com resolução satisfatória em relação ao pico de cloridrato de mefloquina ($t_r = 6,129$ min; $k = 1,47$).

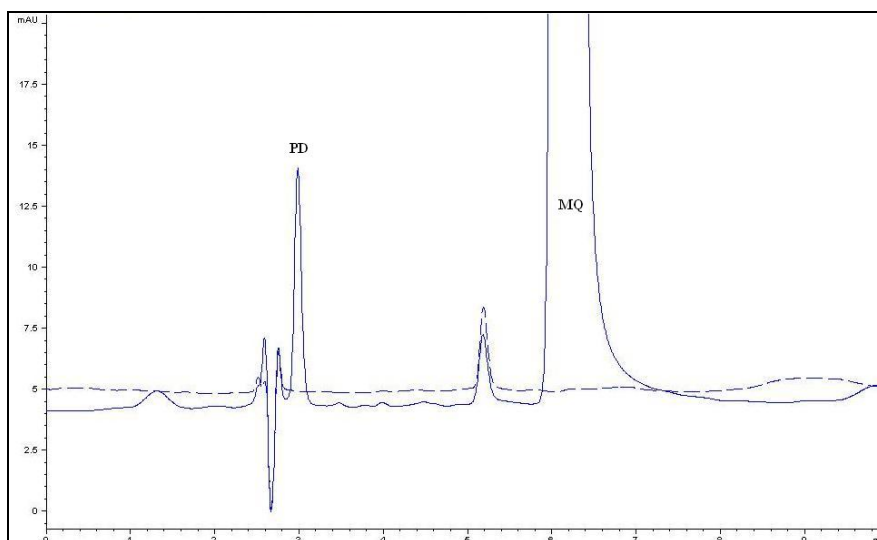


Figura 29 – Ampliação da sobreposição do cromatograma do branco utilizando água ultra-pura (tracejado) e do cromatograma da amostra contendo cloridrato de mefloquina (MQ) retirada em 9 horas de reação (linha cheia). (PD = produto de degradação)

No experimento realizado utilizando solução de peróxido de hidrogênio, foram observados, somente na amostra retirada com 9h de experimento, dois picos de pequena intensidade também próximos ao tempo do volume morto ($t_r = 3,219$ min; $k = 0,30$ e $t_r = 3,438$ min; $k = 0,39$) com resolução satisfatória em relação ao pico de cloridrato de mefloquina ($t_r = 6,136$ min; $k = 1,49$). A integração destes picos foi prejudicada pela interferência do pico do peróxido de hidrogênio em 2,677 min.

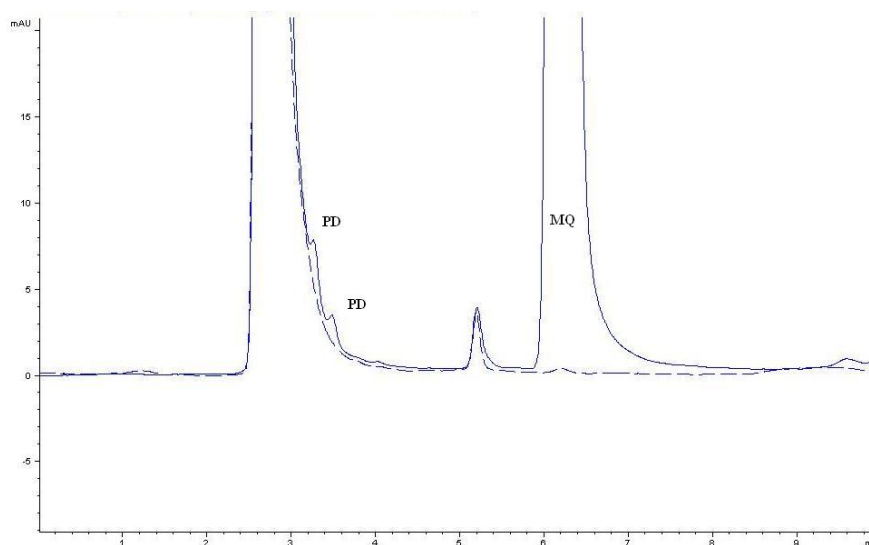


Figura 30 – Ampliação da sobreposição do cromatograma do branco utilizando peróxido de hidrogênio (tracejado) e do cromatograma da amostra contendo cloridrato de mefloquina (MQ) retirada em 9 horas de reação (linha cheia). (PD = produtos de degradação)

De um modo geral, o cloridrato de mefloquina se manteve estável frente às diferentes condições de estresse a que foi submetido. Todos os picos observados relativos a possíveis produtos de degradação foram de baixa intensidade, mesmo após nove horas de reação.

Em relação às áreas, os picos de cloridrato de mefloquina não sofreram redução de valor em nenhuma das tomadas de amostra comparando-se com a amostra retirada no tempo zero, demonstrando que a degradação, quando ocorreu, não foi significativa. Ao contrário, os picos de cloridrato de mefloquina apresentaram um discreto aumento de valores de área, provavelmente devido à evaporação do solvente.

O cloridrato de mefloquina não apresenta em sua estrutura grupos que sejam suscetíveis à hidrólise como grupos éster e amida, por exemplo. Mas, poderia, teoricamente, sofrer oxidação catalisada pela luz, devido à presença, na estrutura, de álcool alifático secundário, aminas alifáticas e anéis benzênicos (NUDELMAN, 1975). Esta oxidação poderia explicar o aparecimento de picos com fatores de retenção próximos a tempo zero em todos os experimentos (ácido clorídrico, hidróxido de sódio, água e peróxido de hidrogênio), já que os tubos utilizados não foram cobertos de forma a impedir a passagem da luz do ambiente.

Para a seletividade do método analítico, as condições cromatográficas escolhidas (Tabela 33) foram adequadas para a determinação de cloridrato de mefloquina dado que os picos

observados nos experimentos de hidrólise e oxidação apresentaram resolução em linha de base com o pico principal.

5.2.2.2 Fotoestabilidade do cloridrato de mefloquina

Os trabalhos realizados por TONNESEN e colaboradores (1990, 1997 e 1999) mostraram que o cloridrato de mefloquina não é estável à luz tanto no estado sólido quanto em soluções aquosas.

No presente trabalho, foram observados picos referentes a produtos de fotólise do cloridrato de mefloquina em solução aquosa e as condições cromatográficas do método tiveram que ser alteradas para permitir uma separação adequada destes produtos.

As amostras retiradas em 0,5; 1, 2, 4 e 8 horas foram injetadas no cromatógrafo com as condições descritas na Tabela 33. Foi observado, no cromatograma da amostra retirada com meia hora de experimento, um pico de baixa intensidade com tempo de retenção de 5,228 min e fator de retenção igual a 1,08. Este pico aumentou de intensidade com o passar do tempo, sendo seguido pelo aparecimento de outros picos, à medida em que o tempo da reação aumentava. Para facilitar a sua identificação, o pico será denominado impureza 1 (IMP1).

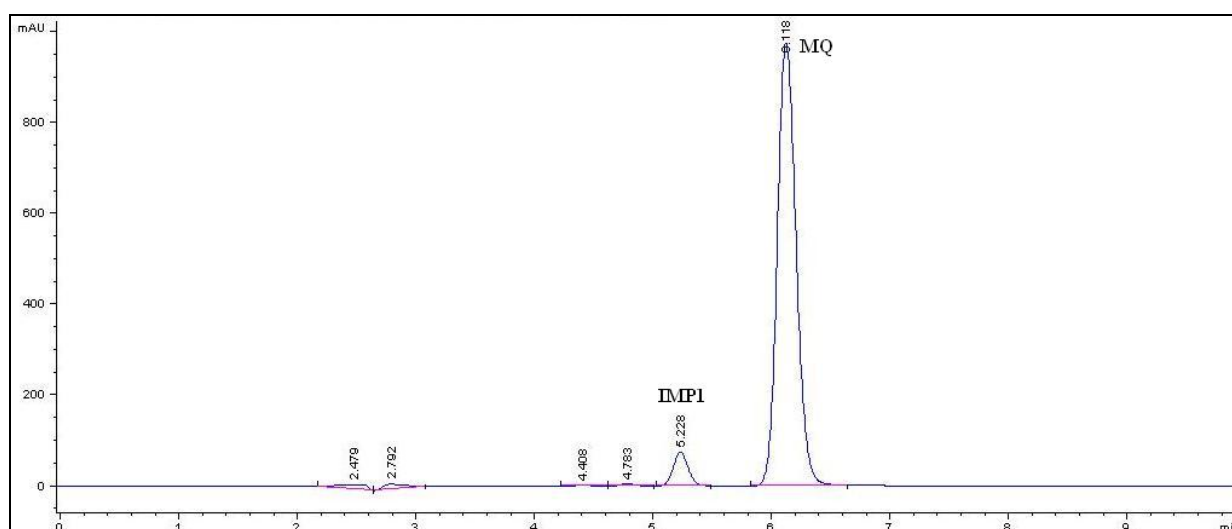


Figura 31 – Cromatograma da solução de fotólise após 8 horas de experimento (cloridrato de mefloquina, $t_r = 6,118$ min, $k = 1,47$; IMP1, $t_r = 5,228$ min, $k = 1,11$). Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,5 (65:35); fluxo 1,0 ml/min; coluna C_{18} a 30 °C; detecção $\lambda = 222$ nm.

A resolução (R) calculada pelo método da largura à meia altura entre o pico de mefloquina e da IMP1 foi de 3,46. Entretanto, ampliando-se o cromatograma da Figura 31, observou-se que o pico de cloridrato de mefloquina apresentava um ombro, sendo necessário então ajustar as condições cromatográficas. Reduzindo-se a proporção de metanol na fase móvel de 65% para 60% foi possível obter melhor separação dos picos.

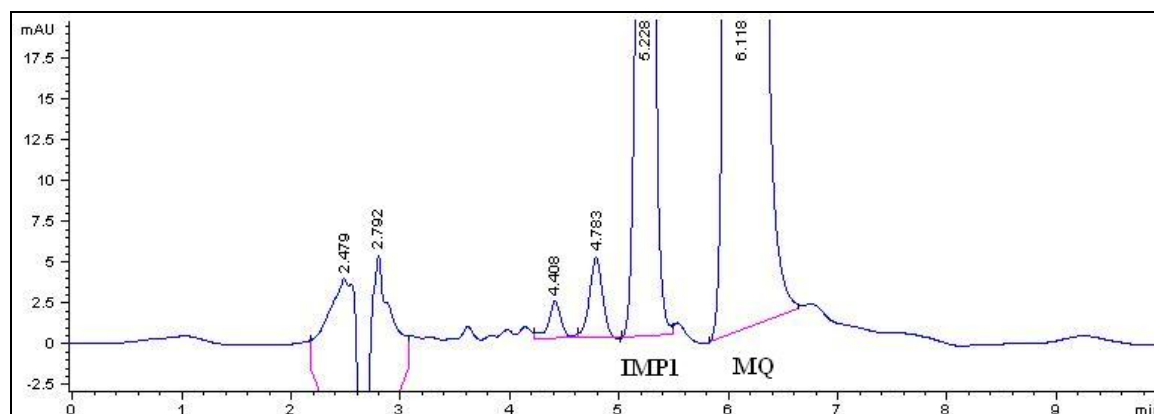


Figura 32 – Ampliação do cromatograma da solução de fotólise após 8 horas de experimento (cloridrato de mefloquina, $t_r = 6,118$ min, $k = 1,47$; IMP1, $t_r = 5,228$ min, $k = 1,11$). Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,5 (65:35); fluxo 1,0 ml/min; coluna C_{18} a 30 °C; detecção $\lambda = 222$ nm.

Assim, as condições cromatográficas foram ajustadas, resultando naquelas descritas na Tabela 35. Estas condições foram testadas com as amostras do segundo estudo de fotólise e, como observado na Figura 33, resultaram em uma melhor separação do cloridrato de mefloquina de seus produtos de degradação, mesmo após 12 horas de reação. A resolução entre o pico de cloridrato de mefloquina e o da IMP1 foi de 5,35.

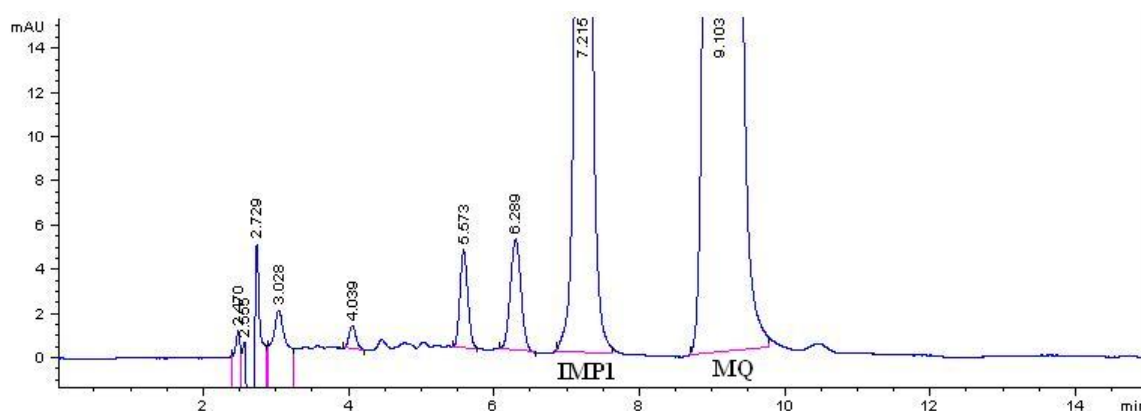


Figura 33 – Ampliação do cromatograma da solução de fotólise após 12 horas de experimento (cloridrato de mefloquina, $t_r = 9,103$ min, $k = 2,69$; IMP1, $t_r = 7,215$ min, $k = 1,92$). Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,5 (60:40); fluxo 1,0 ml/min; coluna C_{18} a 30 °C; detecção $\lambda = 222$ nm.

Os espectros da solução de fotólise em 0, 4, 8 e 12 horas de reação obtidos em espectrofotômetro UV na faixa de 200 a 400 nm não mostraram diferença entre si e em relação ao obtido no tempo zero, demonstrando a falta de seletividade do método UV para os produtos de fotólise do cloridrato de mefloquina (Figura 34).

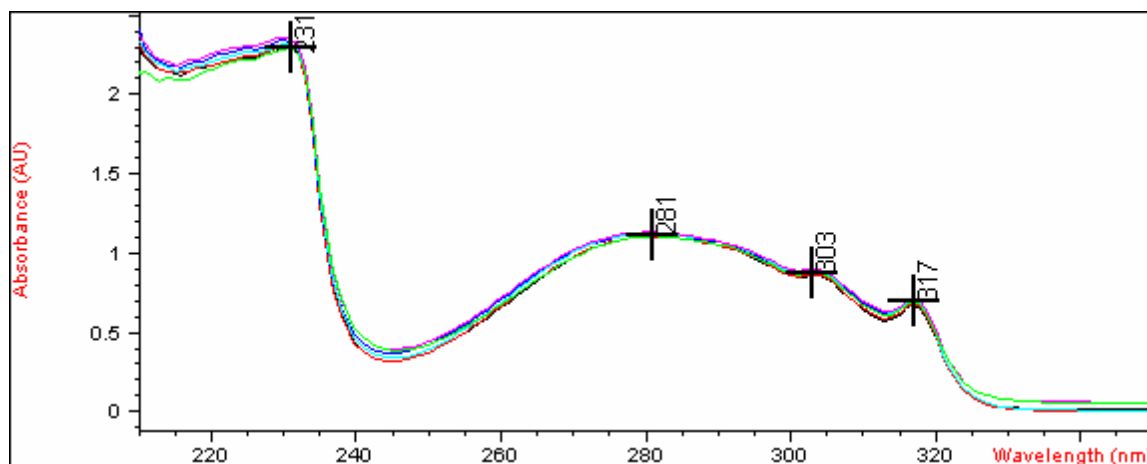


Figura 34 – Sobreposição dos espectros na região do ultravioleta da solução de fotólise do cloridrato de mefloquina no tempo zero e após 4, 8 e 12 horas de reação. Os comprimentos de onda máximos estão em destaque.

Como demonstrado, as condições cromatográficas descritas na Tabela 35 permitiram determinar o cloridrato de mefloquina na presença de seus produtos de fotólise em solução aquosa. Para se ter uma idéia da velocidade de degradação, foi avaliado o decaimento das áreas do pico de cloridrato de mefloquina em função do tempo de exposição à lâmpada UV (Tabela 42). Foi traçado um gráfico relacionando o tempo de exposição, em horas, com o logaritmo da porcentagem de área do pico de cloridrato de mefloquina remanescente (Figura 35). As áreas foram obtidas com os cromatogramas em 222 nm. Foi obtida uma linha reta no gráfico com coeficiente de determinação (R^2) superior a 0,96. Este coeficiente pode não ter sido maior devido a variações da intensidade de energia da lâmpada, o que poderia acarretar variações na quantidade de cloridrato de mefloquina degradado.

Tabela 42 – Dados de tempo de exposição, áreas do pico principal, porcentagem de área remanescente e logaritmo da porcentagem de área remanescente para construção do gráfico de decaimento da concentração de cloridrato de mefloquina em função do tempo de exposição

<i>Tempo de exposição (h)</i>	<i>Área do pico de cloridrato de mefloquina em 222 nm (mAU.s)</i>	<i>Porcentagem da área remanescente em relação ao tempo zero</i>	<i>Log da porcentagem de área remanescente em relação ao tempo zero</i>
0	10642,9	100,0	2,0000
4	9782,6	91,9	1,9634
8	8478,6	79,7	1,9013
12	8115,4	76,3	1,8822

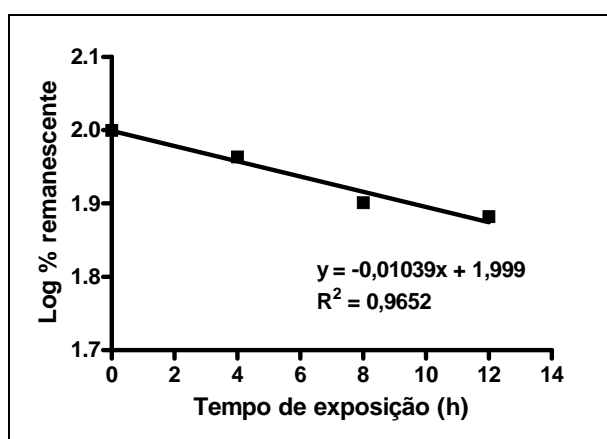


Figura 35 – Gráfico do logaritmo da porcentagem de cloridrato de mefloquina remanescente em função do tempo de exposição da solução à luz UV.

O objetivo da otimização da separação cromatográfica era determinar seletivamente o cloridrato de mefloquina em presença de seus produtos de degradação, mas não necessariamente separar os produtos de degradação entre si, o que não foi possível utilizando-se 60% de metanol na fase móvel. Foi necessário reduzir a força eluente da fase móvel para a separação dos produtos de degradação. No cromatograma da solução com 12 horas de exposição obtido com 50% de metanol na fase móvel, foram observados quatro picos relativos a produtos de degradação do cloridrato de mefloquina. O cromatograma e os respectivos espectros no ultravioleta são mostrados na Figura 36.

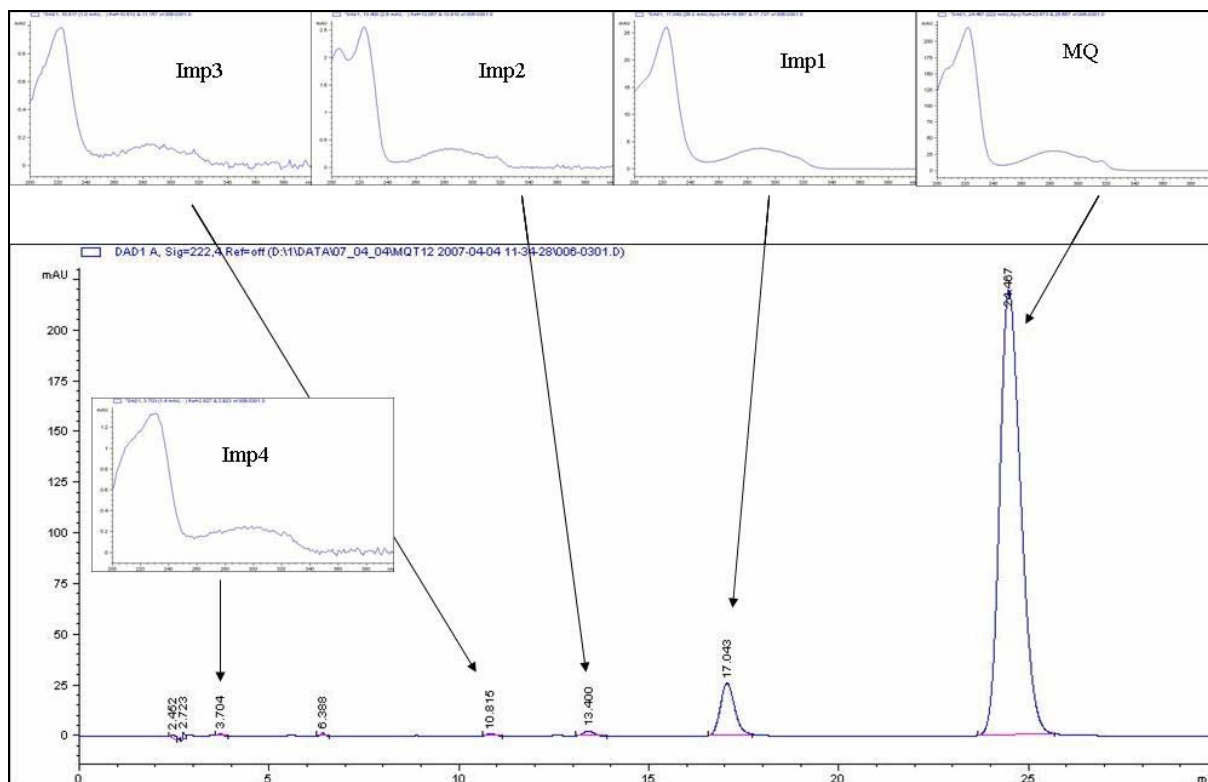


Figura 36 – Cromatograma da solução de cloridrato de mefloquina (MQ) após 12h de exposição à lâmpada UV. Os espectros na região do ultravioleta dos inserts foram obtidos na faixa de 200 nm a 400 nm. Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,5 (50:50); fluxo 1,0 ml/min; coluna C₁₈ a 30 °C; detecção $\lambda = 222$ nm

No trabalho de TONNESEN e colaboradores (1990) foram identificados seis produtos de degradação fotolítica do cloridrato de mefloquina. Cinco destes produtos estão relacionados na Tabela 43, sendo o sexto produto o isômero treo da mefloquina. Utilizando técnicas de espectrometria de massas, a autora determinou as possíveis fórmulas estruturais para estes produtos. Em um estudo posterior (TONNESEN, 1999) foram identificados outros quatro produtos, totalizando 10. Neste trabalho, foram detectados por CLAE quatro produtos de degradação fotolítica do cloridrato de mefloquina em água, porém, somente com os dados de espectro UV não foi possível relacionar estes produtos com os caracterizados por TONNESEN.

Tabela 43 – Propostas de fórmulas estruturais, números de CAS, nomes químicos, fórmulas moleculares e massas molares dos produtos de degradação pela luz do cloridrato de mefloquina em solução aquosa (TONNESEN *et al.*, 1990)

<i>Fórmula estrutural</i>	<i>CAS</i>	<i>Nome químico</i>	<i>Fórmula molecular</i>	<i>Massa (g/mol)</i>
	35853-41-9	4-Quinololinol, 2,8-bis(trifluorometil)- (9CI)	C ₁₁ H ₅ F ₆ NO	281,16
	129735-23-5	4,4'-Biquinolina, 2,2',8,8'-tetrakis(trifluorometil)- (9CI)	C ₂₂ H ₈ F ₁₂ N ₂	528,30
	129625-31-6	Quinolona, 2,8-bis(trifluorometil)- (9CI)	C ₁₁ H ₅ F ₆ N	265,16
	129625-32-7	Metanona, [2,8-bis(trifluorometil)-4-quinolinil][6-(2-piperidinilcarbonil)-2-piperidinil]- (9CI)	C ₂₃ H ₂₃ F ₆ N ₃ O ₂	487,44
	129625-33-8	2-Piperidinacarboxaldeído, 6-[[2,8-bis(trifluorometil)-4-quinolinil]carbonil]- (9CI)	C ₁₈ H ₁₄ F ₆ N ₂ O ₂	404,31

Até este ponto, utilizou-se detecção em comprimento de onda de 222 nm, para o estudo da seletividade do método analítico, pois é um comprimento de onda menos seletivo e, portanto, capaz de detectar substâncias relacionadas e produtos de degradação com mais sensibilidade (BERRY, 1982). Deste ponto em diante, os cromatogramas apresentados utilizaram 283 nm como comprimento de onda de detecção, pois o objetivo era quantificar o cloridrato de mefloquina presente nos comprimidos.

5.2.2.3 Seletividade frente às substâncias estruturalmente relacionadas ao cloridrato de mefloquina

As condições cromatográficas propostas foram capazes de separar adequadamente três substâncias com estruturas químicas similares ao cloridrato de mefloquina: difosfato de cloroquina, sulfato de quinina e difosfato de primaquina. O cromatograma obtido com a mistura das quatro substâncias e seus respectivos espectros está na Figura 37.

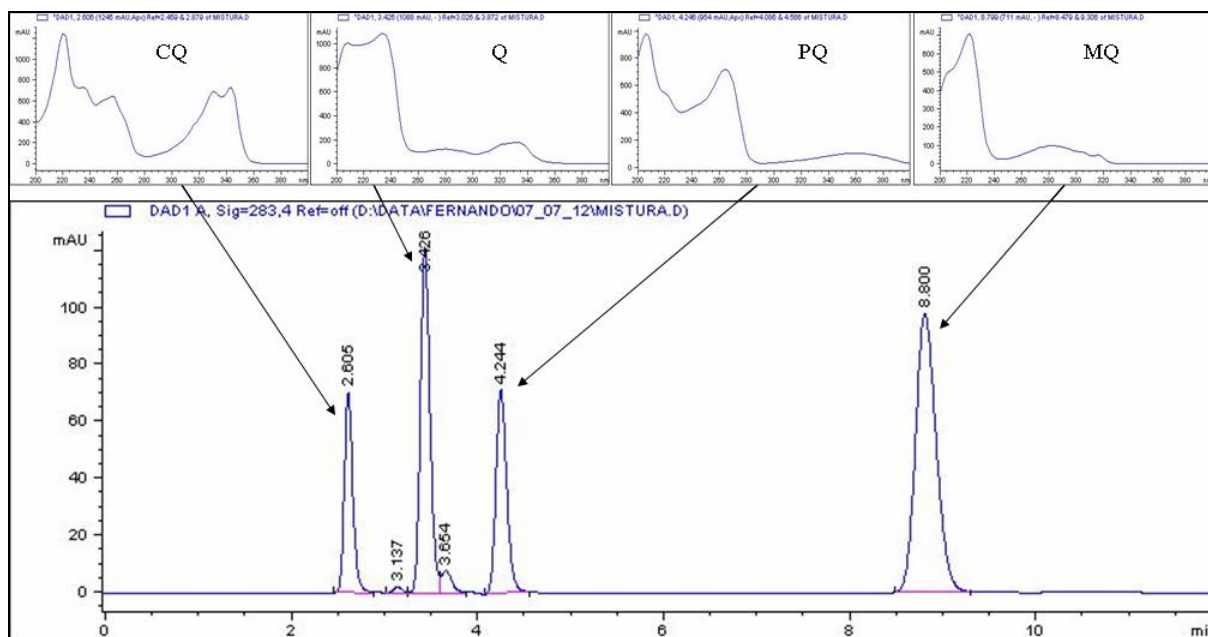


Figura 37 – Cromatograma da solução contendo difosfato de cloroquina (CQ), sulfato de quinina (Q), difosfato de primaquina (PQ) e cloridrato de mefloquina (MQ) todos a 0,1 mg/ml em fase móvel. Os espectros na região do ultravioleta dos inserts foram obtidos na faixa de 200 nm a 400 nm. Condições cromatográficas: metanol:tampão pH 3,5 (60:40); fluxo 1,0 ml/min; coluna C₁₈ a 30 °C; detecção $\lambda = 283$ nm

Como perspectiva futura, o método desenvolvido pode ser otimizado para a determinação de difosfato de cloroquina e de difosfato de primaquina em comprimidos, como alternativa aos métodos por espectrofotometria no ultravioleta e volumetria respectivamente existentes na Farmacopéia Americana 30ª edição (THE UNITED, 2006).

5.2.3 Linearidade

A linearidade do método foi avaliada utilizando-se a curva analítica construída com os valores de concentração de cloridrato de mefloquina correspondentes à faixa de 50% a 150% da

concentração de trabalho e seus respectivos valores de área (Tabela 44). O método de regressão linear utilizado foi o dos mínimos quadrados.

Tabela 44 – Concentrações de cloridrato de mefloquina e valores de área para a construção da curva analítica do método de doseamento em comprimidos utilizando CLAE

Cloridrato de mefloquina (µg/ml)	Nível de concentração *	n	Área (mAU.s)	Fator de resposta ×100
50,83	50%	1	848,7	16,70
		2	853,0	16,78
		3	870,8	17,13
76,25	75%	1	1301,9	17,07
		2	1280,1	16,79
		3	1284,6	16,85
101,67	100%	1	1713,9	16,86
		2	1749,9	17,21
		3	1711,9	16,84
127,08	125%	1	2180,8	17,16
		2	2150,2	16,92
		3	2160,6	17,00
152,50	150%	1	2588,8	16,98
		2	2580,6	16,92
		3	2625,0	17,21
Média dos fatores de resposta				16,96
DPR (%)				0,98

* em relação à concentração de trabalho

A curva analítica construída com os dados da Tabela 44 está representada na Figura 38.

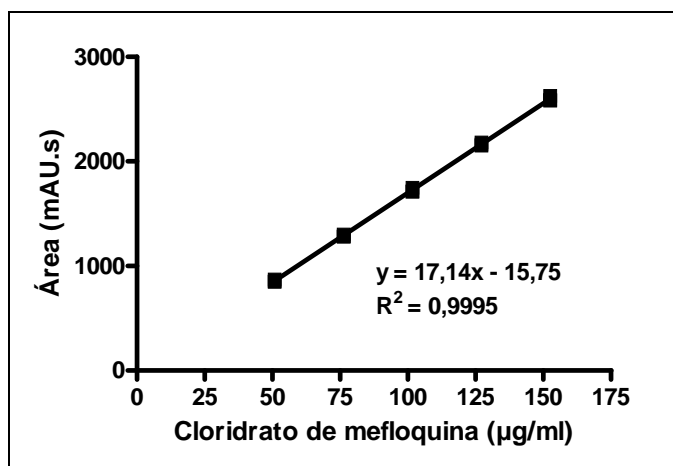


Figura 38 – Representação gráfica da curva analítica para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos.

A distribuição dos resíduos não foi normal no nível de significância de 5% ($p < 0,05$), porém foi aleatória podendo ser visualizada no gráfico de distribuição de resíduos (Figura 39). O coeficiente de determinação (R^2) foi adequado, acima de 0,99. A interseção com o eixo das abcissas não foi estatisticamente diferente de zero, não sendo necessário calcular a contribuição do intercepto para a resposta a 100% da concentração de trabalho (GREEN, 1996). O DPR dos fatores de resposta foi menor que 1%, indicando homogeneidade entre a relação dos valores de área do pico de cloridrato de mefloquina e seus respectivos valores de concentração. Os resultados da análise estatística indicam ajuste adequado aos modelos de regressão linear.

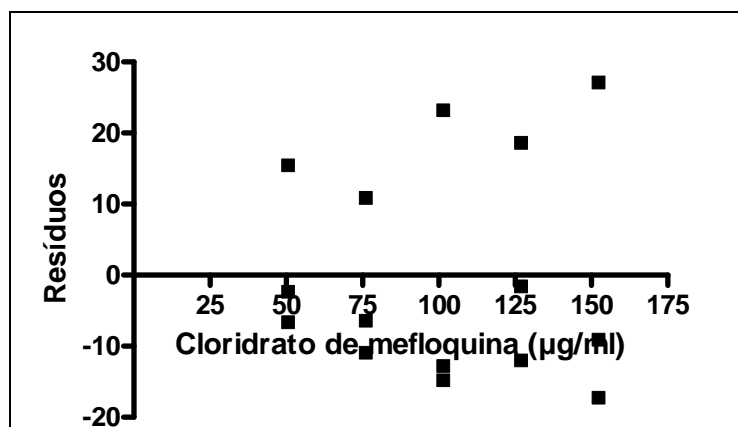


Figura 39 – Representação gráfica da distribuição dos resíduos da curva analítica para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos.

5.2.4 Precisão intra-ensaio e inter-ensaios

A avaliação da precisão intra-ensaio e inter-ensaios foi realizada calculando-se o desvio padrão relativo (DPR) dos valores encontrados em dois dias consecutivos para cloridrato de mefloquina em uma amostra homogênea de comprimidos. Os resultados estão relacionados na Tabela 45.

Tabela 45 – Valores de área e teor de cloridrato de mefloquina em comprimidos para avaliação da precisão do método de doseamento por CLAE

<i>Amostra</i>	<i>1º dia</i>		<i>2º dia</i>	
	<i>Área (mAU.s)</i>	<i>Teor de cloridrato de mefloquina</i>	<i>Área (mAU.s)</i>	<i>Teor de cloridrato de mefloquina</i>
1	1685,0	100,82	1609,3	98,83
2	1605,8	100,48	1594,0	99,37
3	1689,8	99,01	1609,6	99,59
4	1648,0	101,07	1648,6	98,82
5	1631,2	99,28	1613,1	98,82
6	1814,7	99,26	1599,2	98,58
	Média	99,99	Média	99,00
	DPR (%)	0,90	DPR (%)	0,39

A média dos valores obtidos nos dois dias consecutivos (n=12) foi de 99,50% com DPR de 0,84%. A distribuição dos valores de teor de cloridrato de mefloquina em cada dia não foi normal, sendo necessária a utilização de testes estatísticos não paramétricos para a comparação dos valores médios obtidos em cada dia de análise. Utilizando-se o teste de Mann-Whitney, as medianas dos valores de teor obtidos nos dias 1 e 2 não foram estatisticamente diferentes ($p < 0,05$). Os valores de DPR para a precisão intra-ensaio e inter-ensaios estão de acordo com a legislação brasileira e com a literatura (BRASIL, 2003c; GREEN, 1996; RIBANI, 2004).

Os cromatogramas da solução padrão e da solução amostra no estudo da precisão do método são representados na Figura 40.

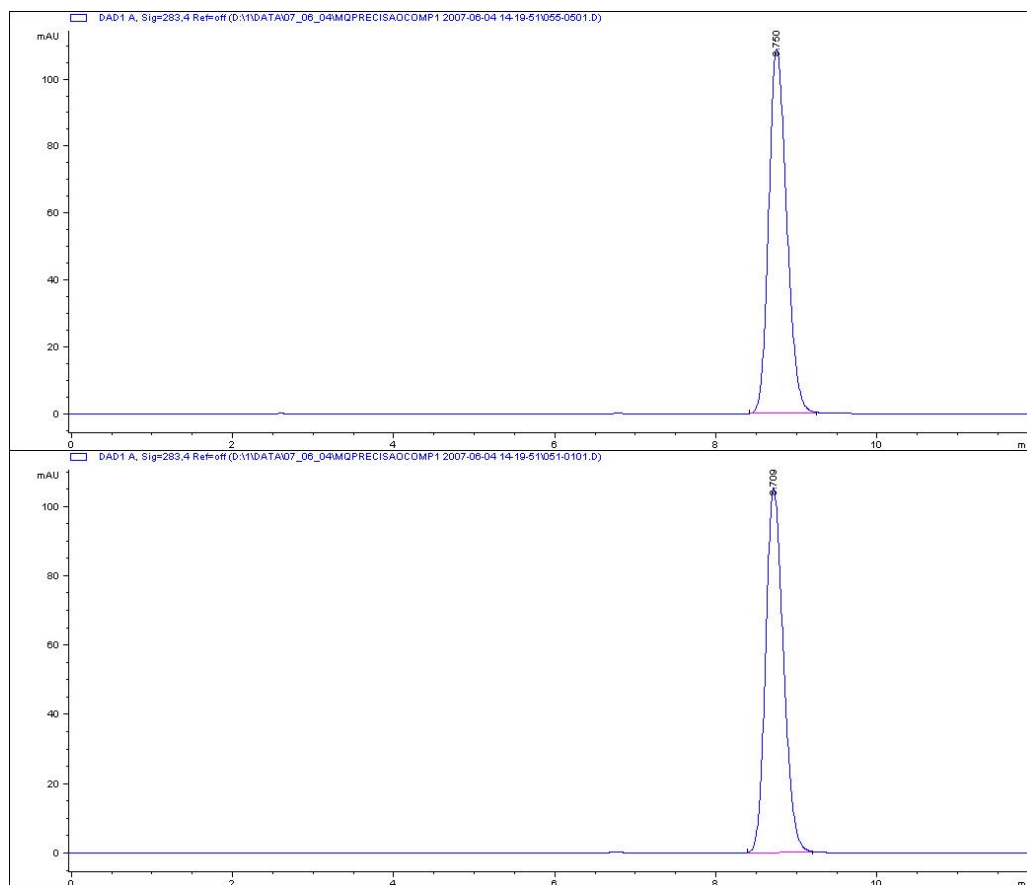


Figura 40 – Cromatogramas da solução padrão (superior) e da solução amostra (inferior) de cloridrato de mefloquina do estudo da precisão do método por CLAE aplicado a comprimidos

5.2.5 Exatidão

Para a avaliação das quantidades de analito recuperadas, primeiramente foi determinado o conteúdo de cloridrato de mefloquina presente na amostra de comprimidos correspondente a 60% da concentração de trabalho, à qual foram adicionadas quantidades crescentes de matéria prima. Os valores de recuperação médios devem estar entre 98,0 e 102,0% (BRASIL, 2003c; GREEN, 1996; RIBANI, 2004) e, como apresentado na Tabela 46, estão dentro da faixa especificada.

Tabela 46 – Porcentagens de recuperação do padrão de cloridrato de mefloquina adicionado à amostra contendo quantidade conhecida do analito para avaliação da exatidão do método para doseamento por CLAE aplicado a comprimidos

<i>Nível</i>	<i>n</i>	<i>Padrão adicionado</i> ($\mu\text{g/ml}$)	<i>Concentração</i> <i>teórica</i> ($\mu\text{g/ml}$)	<i>Recuperado</i> ($\mu\text{g/ml}$)	<i>Porcentagem</i> (%)	<i>Médias</i>
75% (75 $\mu\text{g/ml}$)	1	14,79	74,33	73,24	98,54	98,81
	2	15,02	76,41	75,60	98,94	
	3	14,67	73,58	72,81	98,95	
100% (100 $\mu\text{g/ml}$)	1	38,14	96,46	96,76	100,30	99,69
	2	39,65	98,70	98,49	99,79	
	3	39,43	97,76	96,76	98,98	
125% (125 $\mu\text{g/ml}$)	1	63,57	121,91	120,60	98,93	100,25
	2	64,37	122,81	124,00	100,97	
	3	63,39	121,89	122,91	100,84	

5.2.6 Limite de detecção e limite de quantificação

O valor encontrado para o desvio padrão da resposta da curva analítica foi de 11,95. Aplicando-se a fórmula preconizada pelo ICH (INTERNATIONAL, 2005) e descrita na seção 5.1.2.6, os valores calculados para os limites de detecção e quantificação foram de 2,30 $\mu\text{g/ml}$ e 6,97 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Os cromatogramas das soluções de cloridrato de mefloquina obtidos nestas concentrações ultrapassaram as relações sinal/ruído preconizadas por SNYDER e colaboradores (1997) e pelo próprio ICH. Assim, as soluções foram submetidas a diluições sucessivas e injetadas no cromatógrafo até obtenção de relação sinal/ruído próxima a 3 para o limite de detecção e a 10 para o limite de quantificação.

O limite de detecção para o cloridrato de mefloquina foi de 0,3 $\mu\text{g/ml}$, e o respectivo cromatograma está representado na Figura 41.

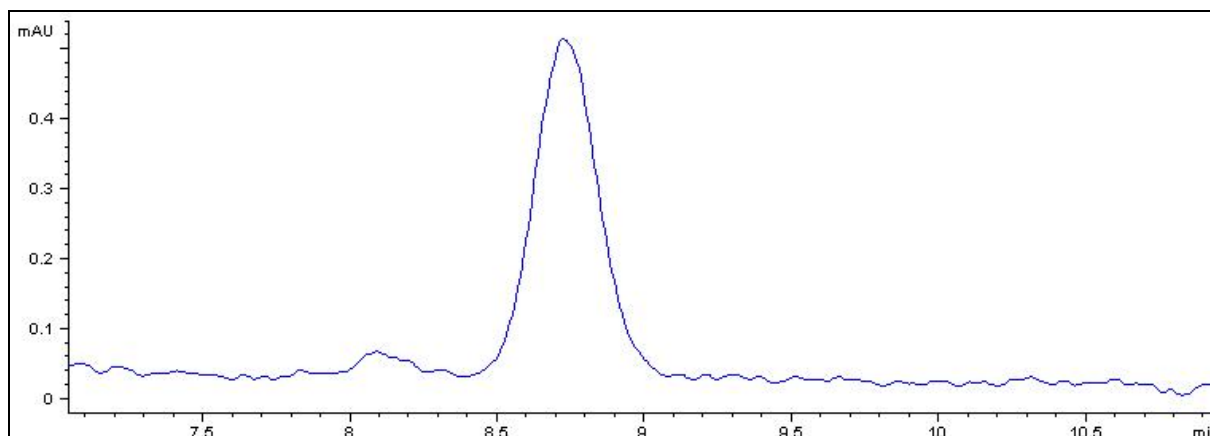


Figura 41 – Cromatograma a 283 nm da solução de cloridrato de mefloquina a 0,3 µg/ml.

Para o limite de quantificação, a solução de cloridrato de mefloquina foi diluída até conter 0,45 µg/ml em fase móvel. Esta solução foi injetada no cromatógrafo 5 vezes para a verificação da relação sinal/ruído. O DPR das áreas dos picos principais também foi determinado (Tabela 47).

Tabela 47 – Tempos de retenção e valores de área de cinco injeções de uma solução de cloridrato de mefloquina a 0,45 µg/ml para verificação do limite de quantificação do método por CLAE

<i>Injeção</i>	<i>Tempo de retenção (min)</i>	<i>Área (mAU.s)</i>
1	8,727	7,5
2	8,784	7,5
3	8,776	7,5
4	8,775	7,6
5	8,763	7,8
Média	8,765	7,5
DPR (%)	0,26	1,79

O valor de desvio padrão relativo das áreas inferior a 2% e a relação sinal/ruído superior a 10 foram os critérios utilizados para o estabelecimento do valor de 0,45 µg/ml como menor quantidade de cloridrato de mefloquina que é capaz de ser quantificada por este método.

5.2.7 Robustez e adequabilidade do sistema

A robustez foi avaliada variando-se deliberadamente as condições cromatográficas do método proposto e medindo-se a quantidade de cloridrato de mefloquina presente em 6 amostras

homogêneas de comprimidos em cada condição. Ao todo foram avaliadas 9 condições diferentes, e os resultados estão relacionados na Tabela 48.

Tabela 48 – Resultados das determinações de cloridrato de mefloquina em diversas condições para a avaliação da robustez do método por CLAE

<i>Amostra</i>	<i>Condições</i>								
	<i>Nominal</i>	<i>57% MeOH</i>	<i>63% MeOH</i>	<i>0,9 ml/min</i>	<i>1,1 ml/min</i>	<i>25 °C</i>	<i>35 °C</i>	<i>pH 3,0</i>	<i>pH 4,0</i>
1	95,45	95,91	95,35	95,08	95,01	94,76	94,88	98,67	99,27
2	95,94	95,95	95,91	95,46	95,26	95,02	94,96	97,54	99,61
3	97,27	97,17	97,01	96,93	96,41	96,27	96,28	99,45	99,58
4	96,36	96,32	96,14	95,90	95,63	95,43	95,44	99,24	100,37
5	96,73	96,70	96,46	96,13	96,10	96,19	95,86	99,75	99,51
6	97,13	97,10	96,99	96,71	96,40	96,29	96,17	99,53	100,99
Média	96,48	96,53	96,31	96,03	95,80	95,66	95,60	99,03	99,89
DPR	0,70	0,55	0,65	0,71	0,60	0,68	0,60	0,82	0,66

A comparação das médias utilizando o teste de Tukey após a análise de variância (ANOVA) mostrou diferença estatisticamente significativa entre a média obtida com as condições nominais e as médias obtidas com o pH do tampão da fase móvel ajustado para 3,0 e para 4,0. Isto indica que o valor de pH do tampão é crítico para a realização desta análise e deve ser mantido em uma faixa estreita em torno de 3,5.

Na Tabela 49 estão relacionados os parâmetros utilizados para avaliar a adequabilidade do sistema, quais sejam, médias dos valores de fator de cauda, fator de retenção, número de pratos teóricos, médias e DPR das áreas dos picos de cloridrato de mefloquina obtidos com cinco injeções da solução padrão, em cada uma das condições previstas na Tabela 38.

Tabela 49 – Valores médios de área, fator de retenção, fator de cauda e número de pratos teóricos relativos ao pico de cloridrato de mefloquina da solução padrão para o estudo da robustez do método CLAE. Em parênteses é apresentado o DPR dos valores de cinco injeções (n=5).

Parâmetros	Condições (n=5)								
	Nominal	57% MeOH	63% MeOH	0,9 ml/min	1,1 ml/min	25 °C	35 °C	pH 3,0	pH 4,0
Área	1791,2 (0,05)	1787,8 (0,11)	1805,4 (0,10)	2008,9 (0,12)	1645,2 (0,08)	1811,2 (0,08)	1821,9 (0,14)	1610,4 (0,20)	1587,1 (0,12)
Fator de retenção	2,21 (0,89)	3,58 (0,86)	1,73 (0,18)	2,44 (0,17)	2,43 (0,12)	2,49 (0,27)	1,96 (0,39)	2,19 (2,02)	2,27 (1,19)
Fator de cauda	1,208 (0,44)	1,242 (0,10)	1,186 (0,43)	1,225 (0,24)	1,195 (0,41)	1,204 (0,41)	1,214 (0,25)	1,175 (0,40)	1,225 (0,32)
No de pratos teóricos	7455 (1,22)	7883 (1,10)	7292 (1,24)	8099 (0,92)	7015 (1,00)	7001 (1,37)	8025 (1,55)	7628 (2,30)	7433,4 (2,93)

Observou-se que, na condição em que o tampão da fase móvel foi ajustado para pH 3,0, o fator de retenção e o número de pratos teóricos, calculados em relação ao pico principal tiveram seus valores de desvio padrão relativo superiores a 2%. O mesmo foi observado para o valor de DPR relativo ao número de pratos teóricos, calculado para o pico de cloridrato de mefloquina obtido com o tampão da fase móvel ajustado para pH 4,0.

Utilizando os valores da Tabela 49 e os valores de adequabilidade do sistema recomendados pelo FDA e citados por RIBANI e colaboradores (2004), foram sugeridos critérios para a adequabilidade do sistema nas análises de cloridrato de mefloquina pelo método de CLAE proposto (Tabela 50).

Tabela 50 – Parâmetros de adequabilidade do sistema recomendados pelo FDA e sugeridos para o método proposto.

Parâmetro	Recomendação do FDA	Sugeridos para o método proposto
Fator de retenção (<i>k</i>)	geralmente $k > 2,0$; o pico deve estar bem resolvido de outros picos e do volume morto.	Idem
Resolução (<i>R</i>)	$R > 2$ entre o pico de interesse e o interferente potencial mais próximo	Idem
Fator de cauda (<i>T</i>)	$T \leq 2$	$T \leq 1,5$
Repetitividade (DPR)	DPR < 1% para $n > 5$	Idem

O fator de retenção deve permanecer como recomendado, dado que não foram observadas diferenças inesperadas com a variação dos parâmetros da robustez. A resolução entre o pico de interesse e o interferente mais próximo deve permanecer também como maior que 2, apesar do valor ter sido maior que 5 nas condições experimentais propostas. O fator de cauda deve ser inferior a 1,5 a fim de permitir melhor reprodutibilidade da integração dos picos.

5.2.8 Comparação entre os métodos cromatográfico e espectrofotométrico para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos

Os resultados da determinação de teor de cloridrato de mefloquina utilizando os métodos cromatográfico e espectrofotométrico (seção 4.1.2.6) estão relacionados na Tabela 51.

Tabela 51 – Resultados das determinações de cloridrato de mefloquina em comprimidos utilizando os métodos cromatográfico e espectrofotométrico.

<i>Amostra</i>	<i>Cloridrato de mefloquina (%)</i>	
	<i>CLAE</i>	<i>UV</i>
1	97,24	99,87
2	98,26	101,73
3	97,99	98,66
4	97,58	100,58
5	98,37	100,18
6	99,37	101,67
Média	98,14	100,45
DPR (%)	0,75	1,16

Após análise estatística utilizando a comparação de médias por teste t, constatou-se que os valores apresentados pelo método cromatográfico foram inferiores aos apresentados pelo método espectrofotométrico. Esta diferença pode ter sido causada pela interferência da matriz dos comprimidos nos valores de absorvância. Como mencionado em 4.2.2.2.1, o intercepto com o eixo das abcissas da curva analítica do método espectrofotométrico foi diferente de zero podendo ter sido influenciado pela matriz do comprimido, levando a valores maiores de absorvância e, conseqüentemente, de teor.

5.2.9 Determinação de teor de cloridrato de mefloquina nos comprimidos da avaliação da qualidade de antimaláricos no sistema único de saúde - SUS

O teor de cloridrato de mefloquina nos comprimidos da avaliação da qualidade de antimaláricos no Sistema Único de Saúde – SUS foi determinado utilizando-se o método CLAE desenvolvido. Os resultados obtidos utilizando o método CLAE e aqueles obtidos pelo método espectrofotométrico (seção 4.2.2.2.4) estão relacionados na Tabela 52.

Tabela 52 – Resultados das determinações de cloridrato de mefloquina nos comprimidos da avaliação da qualidade de medicamentos antimaláricos no sistema único de saúde – SUS utilizando os métodos cromatográfico e espectrofotométrico.

<i>Amostra</i>	<i>Cloridrato de mefloquina (%)</i>	
	<i>CLAE</i>	<i>UV</i>
A	92,82	95,71
B _{ES}	91,32	95,65
B ₁	93,45	94,14
B ₂	93,55	96,24
C ₁	92,60	94,14
C ₂	94,79	95,02
D _{ES}	93,31	93,60
D ₁	96,63	94,93
D ₂	94,16	93,87

Como observado na Tabela 51 e Tabela 52, os valores obtidos pelo método UV foram, em sua maioria, superiores àqueles apresentados pelo método CLAE. Estes valores maiores poderiam ser devido, não somente à interferência da matriz dos comprimidos, como também à presença de produtos de degradação fotolítica, que poderiam ser detectados no método cromatográfico, mas não no método espectrofotométrico. Entretanto, os cromatogramas das amostras levadas à região Norte não mostraram picos referentes a produtos de degradação (Figura 42).

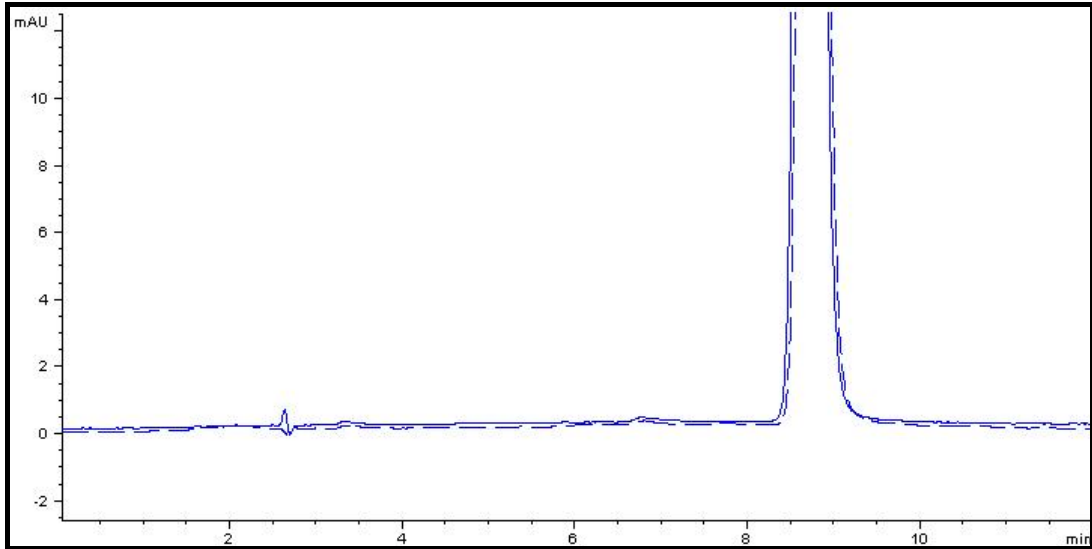


Figura 42 – Ampliação da sobreposição dos cromatogramas da solução padrão (pontilhado) e da solução amostra B_{ES} (linha cheia)

6 CONCLUSÕES

Os estudos realizados levaram à conclusão de que as condições de armazenagem em dois dos estados pesquisados (B e D) são inadequadas para a garantia da qualidade dos medicamentos do Programa Nacional de Combate à Malária. Más condições de armazenamento também foram observadas em todas as unidades básicas de saúde (UBS) visitadas. Urge realizar melhoramentos nestas instalações para que se possa prevenir interferências do ambiente sabidamente capazes de prejudicar a qualidade do medicamento.

Apesar da deficiência de armazenagem comprovada, as amostras de comprimidos de difosfato de cloroquina não apresentaram problemas de qualidade mesmo após os cinco meses de permanência nos almoxarifados estaduais e nas UBS da região norte do Brasil participantes deste estudo. Não foram observadas diferenças nos resultados das análises destas amostras em relação àquela que foi armazenada na Central Nacional de Armazenagem e Distribuição de Insumos (CENADI), localizado na cidade do Rio de Janeiro.

Em relação aos problemas de qualidade detectados no estudo com as amostras de sulfato de quinina e difosfato de primaquina, pode-se concluir que estes estão diretamente relacionados com o processo produtivo e não exatamente com as condições ambientais da região, normalmente quente e úmida. Estes problemas foram observados tanto em amostras que permaneceram na região norte quanto naquelas do CENADI. O desvio porcentual acima do permitido, observado na determinação de peso dos comprimidos de sulfato de quinina, provavelmente foi ocasionado por falhas no controle em processo. A folha de alumínio descolada do blíster, observada nas amostras de difosfato de primaquina, apesar de ter reduzido a proteção que a embalagem confere aos comprimidos, não influenciou diretamente na qualidade deste medicamento. Ainda assim, a má aparência da embalagem pode ser um fator muito significativo na não adesão do paciente ao tratamento.

Houve uma variação na porcentagem de cedência no teste de dissolução de comprimidos de mefloquina armazenados em diferentes locais. Sabe-se que más condições de armazenamento de medicamentos podem modificar as características do comprimido e influenciar seu comportamento no teste de dissolução, levando a redução da cedência do fármaco. A causa real desta observação, no entanto, não pôde ser completamente elucidada: pode-se inferir em

problemas na formulação ou na influência das condições de estocagem. Esta variação não chegou a comprometer a qualidade desses medicamentos, no período estudado, sendo o aprofundamento destas investigações uma proposta futura.

A fabricação de insumos e produtos farmacêuticos é função de vários fatores que envolvem desde a síntese da matéria-prima até a embalagem final do medicamento. A qualidade e estabilidade destes devem ser avaliadas constantemente, a fim de proporcionar à população medicamentos eficazes e seguros. Para tanto, é necessário o uso de métodos analíticos confiáveis e amplamente disponíveis, seja na Farmacopéia Brasileira ou nos códigos farmacêuticos internacionais autorizados. No que tange a sua estabilidade, as condições de armazenamento de medicamentos devem ser as melhores possíveis, evitando perdas desnecessárias e mantendo-os úteis até o fim do prazo de validade.

O método por cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de cloridrato de mefloquina em comprimidos, desenvolvido no presente trabalho, mostrou-se seletivo aos produtos de degradação (hidrolítica e fotolítica) e substâncias estruturalmente relacionadas. Foi também preciso, exato e robusto, exceto quando se varia o pH do tampão da fase móvel. Estas características apresentadas fazem deste método elegível para integrar a monografia de cloridrato de mefloquina comprimidos da Farmacopéia Brasileira.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BASCO, L. K., RINGWALD, P., MANÉNÉ, A. B., CHANDENIER, J. False chloroquine resistance in Africa. *The Lancet*, London, v. 350, p. 224, 1997.

BALLEREAU, F., PRAZUCK, T., SCHRIVE, I., LAFREURIEL, M. T., ROZEC, D., FISCH, A., LAFAIX, C. Stability of essential drugs in the field results of a study conducted over a two year period in Burkina Faso. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, Mclean, v. 57, n. 1, p. 31-36, 1997.

BERRY, V. V. Universal liquid chromatographic methods. II. Sensitive, low-wavelength, gradient reversed-phase methods. *Journal of Chromatography*, Amsterdam, v. 236, p. 279-296, 1982.

BRAGA, E. M., FONTES, C. J. F. *Plasmodium*-malária. In: NEVES, D. P. *Parasitologia humana*. 10 ed. São Paulo: Atheneu, 2002. p. 128-146.

BRASIL. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. *Manual de terapêutica da malária*. Brasília: Ministério da Saúde, 2001. 104p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Fundação Nacional de Saúde. *Ações de controle de endemias: malária: manual para agentes comunitários de saúde e agentes de controle de endemias*. Brasília: Ministério da Saúde, 2002. 104p.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no. 35, de 25 de Fevereiro de 2003. Determina todos os estabelecimentos Distribuidores e Fracionadores de Insumos Farmacêuticos o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico de Boas Práticas de Distribuição e Fracionamento de Insumos Farmacêuticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Poder Executivo, de 07 de Março de 2003a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no. 79, de 11 de Abril de 2003. Na ausência de monografia oficial de matéria-prima, formas farmacêuticas, correlatos e métodos gerais inscritos na Farmacopéia Brasileira. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Poder Executivo, de 14 de Abril de 2003b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE no. 899, de 29 de Maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Poder Executivo, de 02 de Junho de 2003c.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no. 169, de 21 de Agosto de 2006. Inclui a Farmacopéia Portuguesa na relação de compêndios de que trata o art.1º da Resolução da Diretoria Colegiada -RDC nº 79, de 11 de abril de 2003, republicada no DOU nº 72, Seção I, pág. 54, de 14 de abril de 2003.. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Poder Executivo, de 04 de Agosto de 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Programa Nacional de Controle da Malária. - PNCM*. 2 ed. rev. Brasília: Ministério da Saúde, 2004. 128p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Malária. Situação Epidemiológica da Malária no Brasil, 2005. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/situacao_epidemio_malaria.pdf>. Acesso em 11 Ago 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Esquemas recomendados para o tratamento da malária não complicada no Brasil*. Folder, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de Controle da Malária. Situação Epidemiológica da Malária no Brasil, 2007. Disponível em <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/folder_malaria_2007_web.pdf>. Acesso em 17 Jul 2007.

BRITISH Pharmacopoeia 2007. London: Her majesty's Stationary Office, 2007

CAMARGO, E. P. Malária, Maleita, Paludismo. *Ciência e Cultura*, São Paulo, v. 55, n. 1, p. 26-29, 2003.

CSILLAG, C. Epidemic of counterfeit drugs causes concern in Brazil. *The Lancet*, London, v. 352, p. 553, 1998.

FARMACOPÉIA brasileira 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. Parte I.

FARMACOPÉIA brasileira 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1996. Parte I, p. V.1.6.

FARMACOPÉIA brasileira 4. ed. São Paulo: Atheneu, 2000. Parte II, p. 92 e 92.1.

FOLLEY, M., TILLEY, L. Quinoline antimalarials: mechanisms of action and resistance and prospects for new agents. *Pharmacology and Therapeutics*, Oxford, v. 79, n. 1, p. 57-88, 1998.

FOYE, W. O., LEMKE, T. L., WILLIAMS, D. A. (ED.). *Principles of Medicinal Chemistry*. 4 ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995. p. 948-959.

GAUDIANO, M. C., ANTONIELLA, E., BERTOCCHI, P., VALVO, L. Development and validation of a reversed-phase LC method for analysing potentially counterfeit antimalarial medicines. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 42, p. 132-135, 2006.

GREEN, J. M. A practical guide to analytical method validation. *Analytical Chemistry*, Washington, v. 68, p. 305A-309A, 1996.

GREEN, M. D., BERGQVIST, Y., MOUNT, D. L., CORBETT, S., D'SOUZA, M. J. Improved validated assay for the determination of mefloquine and its carboxy metabolite in plasma, serum and whole blood using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, Amsterdam, v. 727, p. 159-165, 1999.

GREEN, M. D., MOUNT, D. L., WIRTZ, R. A., WHITE, N. J. A colorimetric field method to assess the authenticity of drugs sold as the antimalarial artesunate. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 24, p. 65-70, 2000.

GREEN, M. D., NETTEY, H., ROJAS, O. V., PAMANIVONG, C., KHOUNSAKNALATH, L., ORTIZ, M. G., NEWTON, P. N. FERNÁNDEZ, F. M., VONGSACK, L., MANOLIN, O. Use of refractometry and colorimetry as field methods to rapidly assess antimalarial drug quality. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 43, p. 105-110, 2007.

GRINDEL, J. M., TILTON, P. F., SHAFFER, R. D. Quantitation of the antimalarial agent, Mefloquine, in blood, plasma, and urine using high-pressure liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Washington, v. 66, n. 6, p. 834-837, 1977

GUERIN, P. J., OLLIARO, P., NOSTEN, F., DRUILHE, P., LAXMINARAYAN, R., BINKA, F., KILAMA, W. L., FORD, N., WHITE, N. J. Malaria: current status of control, diagnosis, treatment, and a proposed agenda for research and development. *The Lancet Infectious Diseases*, London, v.2, p.564-573, 2002.

GPHF – Global Pharma Health Fund. The GPHF-Minilab[®] -Protection Against Counterfeited and Substandard Pharmaceuticals. Disponível em <<http://www.gphf.org/web/en/minilab/index.htm>>. Acesso em 15 Ago 2007.

HARDMAN, J. G.; LIMBRID, L. E. (ED.) *Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica*. 10.ed. Rio de Janeiro: Mac GrawHill, 2003. 1647 p.

HASTINGS, I. M., D'ALESSANDRO, U. Modelling a predictable disaster: The rise and spread of drug-resistant malaria. *Parasitology Today*, Amsterdam, v. 16, n. 8, p. 340-347, 2000.

INTERNATIONAL Conference on Harmonization – ICH. *Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)*. Geneva: ICH Secretariat, 2005. 17p.

JAHNKE, R.W.O, RUBEAU, V., DWORNIK, K. *A concise quality control guide on essential drugs and other medicines. Fourth supplement to volume II on thin layer chromatography*. Frankfurt: German Pharma Health Fund, 2004. p. 14-17.

KAYUMBA, P. C., RISHA, P. G., SHEWIYO, D., MSAMI, A., MASUKI, G., AMEYE, D., VERGOTE, G., NTAWUKULIRYAYO, J. D., REMOM, J. P., VERVAET, C. The quality of essential antimicrobial and antimalarial drugs marketed in Rwanda and Tanzania: influence of tropical storage conditions on *in vitro* dissolution. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, Edinburgh, v.29, p.331-338, 2004.

KOVARIKOVA, P., KLIMES, J., DOHNAL, J., TISOVSKA, L. HPLC study of glimepiride under hydrolytic stress conditions. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 36, p. 205-209, 2004.

KRON, M. A. Substandard primaquine phosphate for US Peace Corps personnel. *The Lancet*, London, v. 348, p. 1453-54, 1996.

LI, G. Nucleus may be the key site of chloroquine antimalarial action and resistance development. *Medical Hypotheses*, Penrith, v. 67, p. 323-326, 2006.

LON, C. T., TSUYUOKA, R., PHANOUVONG, S., NIVANNA, N., SOCHEAT, D., SOKHAN, C., BLUM, N., CHRISTOPHEL, E. M., SMINE, A. Counterfeit and substandard antimalarial drugs in Cambodia. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, London, v. 100, p. 1019-1024, 2006.

MINZI, O. M. S., MOSHI, M. J., HIPOLITE, D., MASSELE, A. Y., TOMSON, G., ERICSSON, O., GUSTAFSSON, L. L. Evaluation of the quality of amodiaquine and sulfadoxine/pyrimethamine tablets sold by private wholesale pharmacies in Dar Es Salaam Tanzania. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, Edinburgh, v. 28, p. 117-122, 2003.

NEVES, D. P. *Parasitologia humana*. 10.ed. Sao Paulo: Atheneu, 2002. 428p.

NEWTON, P., PROUX, S., GREEN, M., SMITHUIS, F., ROZENDAAL, J., PRAKONGPAN, S., CHOTIVANICH, K., MAYXAY, M., LOOAREESUWAN, S., FARRAR, J., NOSTEN, F., WHITE, N. J. Fake artesunate in southeast Asia. *The Lancet*, London, v. 357, p. 1948-1950, 2001.

NEWTON, P. N., GREEN, M. D., FERNÁNDEZ, F. M., DAY, N. P. J., WHITE, N. J. Counterfeit anti-infective drugs. *The Lancet Infectious Diseases*, London, v. 6, p. 602-613, 2006.

NUDELMAN, N. S. *Estabilidad de medicamentos*. Buenos Aires: El Ateneo, 1975. p. 23-43.

OMS. Organização Mundial da Saúde. *Tratamento da malária grave e complicada. Guia de condutas práticas*. 2 ed. Genebra: OMS, 2000. p. 38-39.

PAHO. Pan American Health Organization. Status of Malaria in the Americas: a Series of Data Tables - 2003. Disponível em <<http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/mal-status-2003.pdf>>. Acesso em 16 Jul 2007.

PAHO. Pan American Health Organization. Status of Malaria in the Americas: a Series of Data Tables - 2006. Disponível em <<http://www.paho.org/english/ad/dpc/cd/mal-status-jan-2006.pdf>>. Acesso em 16 Jul 2007.

PETRALANDA, I. Quality of antimalarial drugs and resistance to *Plasmodium vivax* in the Amazonian region. *The Lancet*, London, v. 345, p. 1433, 1995.

QIU, Y., KITAMURA, S., GUILLORY, J. K. A high-performance liquid chromatographic method for the quantitative enantioselective analysis of mefloquine stereoisomers. *Pharmaceutical Research*, New York, v.9, n.12, p.1640-1643, 1992.

RAO, A. B., MURTHY, R. S. R. A rapid spectrophotometric method for the determination of mefloquine hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v.27, p. 959-965, 2002.

RENAME. *Relação Nacional de Medicamentos Essenciais*. Secretaria de Políticas de Saúde, Departamento de Atenção Básica, Gerência Técnica de Assistência Farmacêutica – 3^a.ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2002.

RIBANI, M., BOTTOLI, C. B. G., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C. S. F., MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Química Nova*, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RIDLEY, R. G. Medical need, scientific opportunity and the drive for antimalarial drugs. *Nature*, London, v. 415, p. 686-693, 2002.

RISHA, P. G., SHEWIYO, D., MSAMI, A., MASUKI, G., VERGOTE, G., VERVAET, C., REMON, J. P. *In vitro* evaluation of the quality of essential drugs on the Tanzanian market. *Tropical Medicine and International Health*, Oxford, v. 7, n. 8, p. 701-707, 2002.

SHAKOOR, O., TAYLOR, R. B., BEHRENS, R. H. Assessment of the incidence of substandard drugs in developing countries. *Tropical Medicine and International Health*, Oxford, v. 2, n. 9, p. 839-845, 1997.

SILVA, M. C. M., SANTOS, E. B., COSTA, E. G., FILHO, M. G. S., GUERREIRO, J. F., PÓVOA, M. M. Alterações clinicolaboratoriais em pacientes com malária por *Plasmodium vivax* e deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase tratados com 0,50 mg/kg/dia de primaquina. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 37, n. 3, p. 215-217, 2004.

SNOW, J. Inc./DELIVER em colaboração com a Organização Mundial da Saúde. Guidelines for the Storage of Essential Medicines and Other Health Commodities. 2003. Arlington: John Snow, Inc./DELIVER. Disponível em <http://www.who.int/entity/3by5/en/storage_pocketguide.pdf>. Acesso em 13 Mai 2005.

SNYDER, L. R., KIRKLAND, J. J., GLAJCH, J. L. *Practical HPLC method development*. 2 ed., New York: John Wiley & Sons, 1997. 765p.

SWEETMAN, S.C. (ED.). *Martindale: The complete drug reference*. 34 ed., London: Pharmaceutical Press, 2005. p. 444-463.

SYHAKHANG, L., LUNDBORG, C. S., LINDREN, B., TOMSON, G. The quality of drugs in private pharmacies in Lao PDR: a repeat study in 1997 and 1999. *Pharmacy World & Science*, Amsterdam, v. 26, p. 333-338, 2004.

TAYLOR, R. B., REID, R. G., BEHRENS, R. H., KANFER, I. Multidrug assay method for antimalarials. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Amsterdam, v. 10, n. 10-12, p. 867-871, 1992.

TAYLOR, R. B., SHAKOOR, O., BEHRENS, R. H. Drug quality, a contributor to drug resistance? *The Lancet*, London, v.346, n.8967, p.122, 1995.

TAYLOR, R. B., SHAKOOR, O., BEHRENS, R. H., EVERARD, M., LOW, A. S., WANGBOONSKUL, J., REID, R. G., KOLAWOLE, J. A. Pharmacopoeial quality of drugs supplied by Nigerian pharmacies. *The Lancet*, London, v. 357, p. 1933-1936, 2001.

THE EUROPEAN Pharmacopoeia. 6 ed. Strasbourg: Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe (EDQM), 2007.

THE INTERNATIONAL Pharmacopoeia. 4 ed. Geneva: World Health Organization, 2006.

THE MERCK Index. An encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 14. ed. Rahway: Merck Co., 2006. 2564 p.

THE UNITED States Pharmacopeia. *USP 28*. 28 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2004.

THE UNITED States Pharmacopeia. *USP 30*. 30 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2006.

TONNESEN, H.H., GRISLINGAAS, A.L. Photochemical stability of biologically active compounds. II. Photochemical decomposition of mefloquine in water. *International Journal of Pharmaceutics*. Amsterdam, v.60, p. 157-162, 1990.

TONNESEN, H. H., SKREDE, G., MARTINSEN, B. K. Photostability of biologically active compounds. XIII. Photostability of mefloquine hydrochloride in the solid state. *Drug Stability*, v. 1, p. 249-253, 1997.

TONNESEN, H. H. Photoreactivity of biologically active compounds. XV. Photochemical behavior of mefloquine in aqueous solution. *Die Pharmazie*, Eschborn, v.54, n.8, p. 590-591, 1999.

TRACY, J. W., WEBSTER JR., L. T. Fármacos usados na quimioterapia das infecções por protozoários Malária. In: HARDMAN, J.G.; LIMBRID, L.E.(ED.) *Goodman e Gilman as bases farmacológicas da terapêutica*. 10.ed. Rio de Janeiro: Mac GrawHill, 2003. p. 803-822.

WHO - World Health Organization. The global malaria situation: current tools for prevention and control. 55th World Health Assembly. Global funds to fight AIDS, Tuberculosis & Malaria, 2002. Disponível em <http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA55/ea55id6.pdf>. Acesso em 11 Ago 2006.

WINSTANLEY, P. Modern chemotherapeutic options for malaria. *The Lancet Infectious Diseases*, London, v.1., p. 242-250, 2001.

WONGSRICHANALAI, C., PICKARD, A. L., WERNSDORFER, W. H., MESHNICK, S. R. Epidemiology of drug-resistant malaria. *The Lancet Infectious Diseases*, London, v.2, p. 209-218, 2002.

ANEXO A

Questionário utilizado no auxílio da caracterização das condições de armazenamento de medicamentos antimaláricos nos almoxarifados estaduais e localidades.

Avaliação pontual da qualidade de antimaláricos no Sistema Único de Saúde - Brasil

Cidade: _____ Estado: _____

Unidade: _____

Data: ____ / ____ / ____

1 – Condições Gerais e Legais

Item	Descrição do Item	Sim	Não	N/A	Observações
1.1	Quanto ao aspecto externo, o edifício apresenta boa conservação (isento de: rachaduras, pintura descascada, infiltrações, etc)?				
1.2	Existe proteção contra entrada de roedores, insetos, aves ou outros animais?				
1.3	O estabelecimento está cadastrado na vigilância sanitária?				
1.4	O estabelecimento possui responsável técnico ou farmacêutico cadastrado no Conselho Regional (CRF)?				
1.5	O farmacêutico responsável técnico ou seu substituto está presente no momento da visita?				
1.6	O espaço físico, construção e fluxo do estabelecimento estão adequados?				
1.7	Possui boa ventilação e iluminação?				
1.8	Há extintores em local de fácil acesso?				
1.9	Pisos, paredes, balcões de material resistente, de cor clara, lavável, de fácil limpeza e desinfecção?				
1.10	Os locais e equipamentos estão limpos, sem poeira ou sujeira aparente?				
1.11	O piso, paredes e teto estão em boas condições de conservação e higiene?				
1.12	Ausência de infiltrações e/ou mofo e/ou acúmulo de lixo?				

2 – Quanto a conservação e armazenamento de produtos e medicamentos

Item	Descrição do Item	Sim	Não	N/A	Observações
2.1	Os medicamentos estão armazenados em local onde somente o pessoal da farmácia tem acesso?				
2.2	Os medicamentos de prescrição estão armazenados em local não visível ao público com acesso restrito?				
2.3	Estão armazenados ao abrigo da luz solar direta?				
2.4	Existe um controle com registro de umidade com anotações regulares (pelo menos duas vezes ao dia) ?				
2.5	Há controle com registro de temperatura do ambiente (pelo menos duas vezes ao dia) ?				
2.6	Os medicamentos estão armazenados sobre prateleiras ou sobre estrados, afastados do piso e da parede?				
2.7	Os laudos de controle de qualidade dos medicamentos antimaláricos estão disponíveis?				
2.8	Há um sistema de controle de estoque (com registro e conferência com estoque físico) ?				
2.9	O controle de estoque é informatizado?				

2.10 – Verificar o estado geral de conservação dos medicamentos da unidade (sinais de instabilidade)

3 – Sobre a dispensação de medicamentos

Item	Descrição do Item	Sim	Não	N/A	Observações
3.1	Existe um cadastro de usuários de medicamentos antimaláricos com controle dos medicamentos e quantidades dispensadas a cada um?				

3.2 – Os medicamentos antimaláricos são dispensados mediante apresentação de:

- () Receita médica originada no próprio serviço de saúde
- () Receita médica de qualquer origem
- () Receita (prescrição delegada) de enfermeiros(as)
- () Registro no prontuário médico do paciente
- () Requisição do próprio Serviço de Saúde
- () Requisição do usuário
- () Outro documento . Especifique: _____

4 – Para as Centrais de Abastecimento Farmacêutico:

4.1 – Que produtos são distribuídos?

- () Medicamentos () Matérias primas (Drogas) () Insumos
 () Produtos para saúde (correlatos) () Não sei () Outros. Especificar _____

4.2 – Assinale as atividades realizadas pela Central de Abastecimento:

- () Armazenamento () Transporte
 () distribuição às Unidades de Saúde () Fracionamento de medicamentos
 () Reembalagem de produtos para Saúde () dispensação ao usuário

4.3 – A Central possui manual de boas práticas de distribuição (armazenamento, transporte, etc.) e/ou possui procedimentos operacionais padronizados?

Procedimentos	Possui?			O utiliza?			Frequência de utilização
	S	N	NA	S	N	NA	
Aquisição							
Conservação							
Armazenamento							
Transporte							
Distribuição							
Controle de Qualidade dos Medicamentos							

Frequência: 1 – nunca/ 2 – quase nunca/ 3 – parte do tempo/ 4 – a maior parte do tempo/ 5 – todo o tempo

4.4 – A central possui um cadastro das Unidades para as quais distribui os medicamentos?

- () Sim () Não () Não sei

4.5 – Possui sistema informatizado de controle de distribuição e rastreamento na rede com controle do número de lotes?

- () Sim () Não () Não sei

4.6 – Por quem é feito o transporte de medicamentos da CAF para as farmácias?

- () Veículo próprio para este fim, do Ministério da Saúde
 () Veículo próprio para este fim, da Secretaria
 () Transportadora terceirizada
 () Por correio
 () Outro. Especificar: _____

4.7 – Que tipo de veículo é utilizado para o transporte?

- () veículos com carroceria aberta
 () Veículos com carrocerias fechadas (tipo furgão), sem refrigeração
 () Veículos com carrocerias fechadas (tipo furgão), com refrigeração
 () Carro ou moto
 () Outro tipo de veículo. Especificar: _____

4.8 – Sofreu roubo de carga nos últimos 12 meses?

- () Sim () Não () Não sei

4.9 – Detectou ou teve suspeita de algum medicamento falsificado nos últimos 12 meses?

- () Sim () Não () Não sei

4.10 – Qual o procedimento adotado pelo serviço para medicamentos vencidos?

- Devolve ao fabricante Notifica a VISA Encaminha a VISA
 descarta Não sabe Outro. Especificar: _____

4.11 – Qual o procedimento adotado pelo serviço para medicamentos falsificados ou com suspeita?

- devolve ao fabricante notifica às farmácias
 notifica a VISA encaminha a VISA
 descarta não sabe
 coloca em quarentena Outro. Especificar: _____

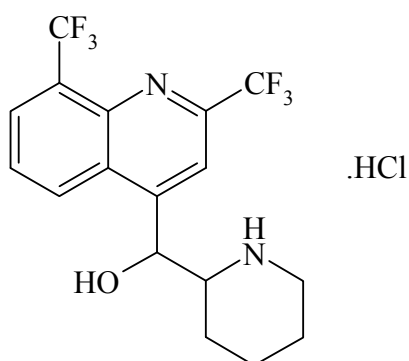
5 - Dados dos medicamentos deixados nesta unidade:

	Validade	Quantidade
Cloroquina 150 mg		
Mefloquina 250 mg		
Primaquina 15 mg		
Quinina 500 mg		

5.1 - Fotografar os medicamentos e o local onde foram deixados.

ANEXO B

Monografias de antimaláricos encaminhadas para a avaliação da Comissão Permanente de Revisão da Farmacopéia Brasileira (CPRFB).

CLODRATO DE MEFLOQUINA
Mefloquini hydrochloridum $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$

414,78

05577

Cloridrato de (*R**,*S**)-(±)- α -2-piperidinil-2,8-bis(trifluorometil)-4-quinolinometanol

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou amarelado. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Pouco solúvel em água, facilmente solúvel em metanol, solúvel em acetato de etila e etanol.

Constantes físico-químicas

Faixa de fusão (V.2.2): 259 °C a 260 °C.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (V.2.14) da amostra, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de mefloquina SQR, preparado de maneira idêntica. Se os espectros obtidos não forem idênticos, dissolver, separadamente, padrão e amostra em metanol e evaporar até *secura*. Obter novos espectros com os resíduos.

B. A 20 mg da amostra, acrescentar 0,2 ml de ácido sulfúrico. Desenvolve-se fluorescência azul sob luz ultravioleta (365 nm).

C. Responde às reações do íon cloreto (V.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Poder rotatório (V.2.8). $-0,2$ a $+0,2$. Determinar em solução a 5% (p/V) em metanol.

Substâncias relacionadas. Proceder conforme descrito em *Cromatografia líquida de alta eficiência* (V.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 280 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 μ m a 10 μ m), capeada; fluxo da fase móvel de 0,8 ml/minuto. Equilibrar a coluna por 30 minutos com fluxo de 2 ml/minuto.

Fase móvel: dissolver 1 g de brometo de tetraetilamônio em mistura de metanol, bissulfato de sódio a 0,15% (p/V) e acetonitrila (2:4:4).

Solução (1): solução da amostra a 4 mg/ml em *fase móvel*.

Solução (2): transferir 1 ml da *solução (1)* para balão volumétrico de 100 ml e completar o volume com *fase móvel*.

Solução (3): transferir cerca de 8 mg de cloridrato de mefloquina SQR e 8 mg de sulfato de quinidina para balão volumétrico de 50 ml. Dissolver e completar o volume com *fase móvel*. Transferir 5 ml para balão volumétrico de 100 ml e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar.

Injetar 20 µl da *solução (3)*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 0,5 para quinidina e 1,0 para mefloquina. A resolução entre os picos de mefloquina e quinidina não é menor que 8,5.

Procedimento: injetar 20 µl das *soluções (1) e (2)* e registrar o cromatograma por, no mínimo, 10 vezes o tempo de retenção do pico principal. A área de qualquer pico com tempo de retenção relativo de cerca de 0,7 obtido com a *solução (1)* não é maior que duas vezes a área do pico principal obtido com a *solução (2)* (0,2%). A área de qualquer pico obtido com a *solução (1)*, exceto o pico principal e o pico com tempo de retenção relativo de cerca de 0,7 não é maior que a área do pico principal obtido com a *solução (2)* (0,1%). A soma das áreas de todos os picos obtidos com a *solução (1)*, exceto o pico principal não é maior que cinco vezes a área do pico principal obtido com a *solução (2)* (0,5%). Não considerar picos com área inferior a 0,2 vezes a área do pico principal obtido com a *solução (2)*.

Metais pesados (V.3.2.3). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,002% (20 ppm).

Água (V.2.20.1). Determinar em 1 g da amostra. Máximo 3,0%.

Cinzas sulfatadas (V.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso* (V.3.4.5). Dissolver 0,3 g da amostra em 15 ml de ácido fórmico anidro. Acrescentar 40 ml de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV determinando o ponto final potenciometricamente. Cada ml de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 41,478 mg de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

XII.2 REAGENTES E SOLUÇÕES REAGENTES

Bissulfato de sódio

CAS – [7681-38-1]

Sinonímia – Sulfato ácido de sódio, hidrogenossulfato de sódio, pirossulfato de sódio.

Fórmula e massa molecular – NaHSO_4 – 120,06

Características físicas – Temperatura de fusão: em torno de 315 °C.

Brometo de tetraeptilamônio

CAS – [4368-51-8]

Fórmula e massa molecular – $\text{C}_{28}\text{H}_{60}\text{BrN}$ – 490,69

Descrição – Pó branco, escamoso.

Características físicas – Faixa de fusão: entre 89 °C e 91 °C.

CLORIDRATO DE MEFLOQUINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no ultravioleta (V.2.14), na faixa de 200 nm a 350 nm, da solução amostra obtida em *Doseamento*, exibe máximos e mínimos idênticos aos observados no espectro da solução padrão.

B. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,25 g de cloridrato de mefloquina para béquer e adicionar 5 gotas de ácido nítrico. Agitar com 50 ml de água e filtrar em papel de filtro para filtração lenta. Adicionar ao filtrado nitrato de prata SR. Forma-se precipitado branco caseoso, insolúvel em ácido nítrico mas solúvel em ligeiro excesso de hidróxido de amônio 6 M.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (V.1.1). Cumpre o teste

Teste de dureza (V.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (V.1.3.2). Cumpre o teste

Teste de desintegração (V.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (V.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (V.1.5)

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 M, 900 ml

Aparelhagem: pás, 100 rpm

Tempo: 60 minutos

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com *meio de dissolução* até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 283 nm (V.2.14) utilizando *meio de dissolução* para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de mefloquina SQR na concentração de 0,006% (p/V), preparada no mesmo solvente. Pode-se utilizar até 5% (V/V) de metanol na primeira diluição para assegurar a completa solubilização do cloridrato de mefloquina SQR.

Tolerância: não menos que 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$ se dissolvem em 60 minutos.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia líquida de alta eficiência* (V.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 283 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 μ m), mantida à 30 °C; fluxo da fase móvel de 1 ml/min.

Tampão pH 3,5: Transferir cerca de 6,80 g de fosfato de potássio monobásico para balão volumétrico de 1000 ml. Dissolver e completar o volume com água. Ajustar o pH para 3,5 com ácido fosfórico.

Fase móvel: mistura de *tampão pH 3,5* e metanol (40:60)

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 100 mg de cloridrato de mefloquina para balão volumétrico de 100 ml, adicionar cerca de 80 ml de metanol e deixar em ultra-som por 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar, descartando os primeiros 10 ml do filtrado. Transferir 5 ml do filtrado para balão volumétrico de 50 ml, completar o volume com fase móvel e homogeneizar.

Solução padrão: pesar exatamente cerca de 10 mg de cloridrato de mefloquina SQR e transferir para balão volumétrico de 100 ml. Adicionar cerca de 80 ml de fase móvel e deixar em ultra-som por 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar.

Injetar replicatas de 20 μ l da *solução padrão*. O fator de cauda não é maior que 1,5. O desvio padrão de áreas de replicatas dos picos registrados não é maior que 1,0%.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µl das *soluções padrão e amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular o teor de $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas com as *soluções padrão e amostra*.

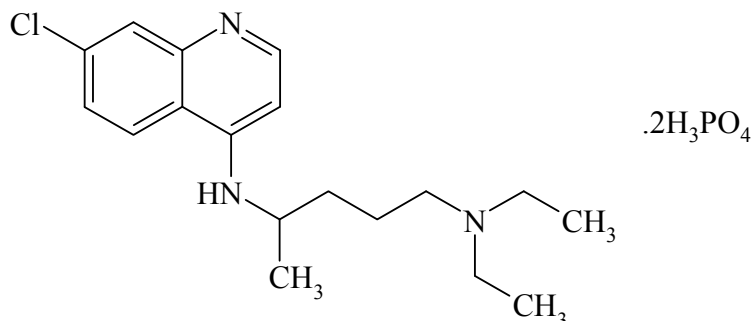
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

DIFOSFATO DE CLOROQUINA
Cloroquini diphosphas



C₁₈H₂₆ClN₃.2H₃PO₄

515,87

02489

Bis(diidrogenofosfato) de *N*⁴-(7-cloro-4-quinolinil)-*N*¹,*N*¹-dietil-1,4-pentanodiamina

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de C₁₈H₂₆ClN₃.2H₃PO₄, em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino, branco ou quase branco, higroscópico. Apresenta polimorfismo.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, muito pouco solúvel em etanol e metanol, praticamente insolúvel em benzeno, clorofórmio e éter etílico.

Constantes físico-químicas

Faixa de fusão (V.2.2): 193 °C a 195 °C, para um dos polimorfos e 215 °C a 218 °C para o outro polimorfo.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no ultravioleta (V.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução amostra obtida no método B de *Doseamento*, exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de difosfato de cloroquina SQR. A razão entre os valores de absorvância medidos em 343 nm e 329 nm está compreendida entre 1,00 e 1,15.

B. Dissolver 25 mg da amostra em 20 ml de água e acrescentar 8 ml de ácido pícrico a 1% (p/V). Forma-se precipitado amarelo. Lavar o precipitado, sucessivamente, com água, etanol e diclorometano. Deixar secar. O resíduo funde entre 206 °C e 209 °C.

C. Dissolver 0,1 g da amostra em 10 ml de água, acrescentar 2 ml de hidróxido de sódio 2 M e extrair com 2 porções de 20 ml de diclorometano. A camada aquosa, acidificada com ácido nítrico, responde à reação 2 do íon fosfato (V.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

pH (V.2.19). 3,8 a 4,3. Determinar em solução a 10% (p/V) em água isenta de dióxido de carbono.

Perda por dessecação (V.2.9). Determinar em 1 g da amostra, em estufa a 105 °C, por 16 horas. No máximo 2,0%.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso* (V.3.4.5). Dissolver 0,2 g da amostra em 50 ml de ácido acético glacial. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV determinando o ponto final potenciométricamente. Cada ml de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 25,794 mg de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* (V.2.14). Pesar, exatamente, cerca de 0,1 g da amostra e transferir para balão volumétrico de 100 ml. Acrescentar 5 ml de água e dissolver. Completar o volume com ácido clorídrico a 0,1% (p/V). Diluir, sucessivamente, com ácido clorídrico a 0,1% (p/V) até concentração de 0,001% (p/V). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 343 nm, utilizando ácido clorídrico a 0,1% (p/V) para ajuste do zero. Calcular o teor de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ na amostra a partir das leituras obtidas.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

DIFOSFATO DE CLOROQUINA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 93,0% e, no máximo, 107,0% da quantidade declarada de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,1 g de difosfato de cloroquina para balão volumétrico de 100 ml. Acrescentar 70 ml de água, deixar em ultra-som por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. Diluir, sucessivamente, com água até concentração de 0,001% (p/V). O espectro de absorção no ultravioleta (V.2.14), na faixa de 200 nm a 400 nm, da solução resultante exibe máximos e mínimos somente nos mesmos comprimentos de onda de solução similar de difosfato de cloroquina SQR. A razão entre os valores de absorvância medidos em 343 nm e 329 nm está compreendida entre 1,00 e 1,15.

B. Acrescentar 5 ml de ácido pícrico SR à solução obtida no teste A de *Identificação*. Forma-se precipitado amarelo. Filtrar e lavar o precipitado com água até que a última água de lavagem seja incolor. Secar sobre sílica-gel. O resíduo obtido funde entre 205 °C e 210 °C.

C. A solução obtida no teste A de *Identificação* responde às reações do íon fosfato.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (V.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (V.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (V.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (V.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (V.1.6). Cumpre o teste.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (V.1.5)

Meio de dissolução: água, 900 ml

Aparelhagem: pás, 100 rpm

Tempo: 45 minutos

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir com água até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 343 nm (V.2.14), utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de difosfato de cloroquina SQR na concentração de 0,002% (p/V), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: não menos que 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ se dissolvem em 45 minutos.

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso* (V.3.4.5). Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Dissolver quantidade do pó equivalente a 0,5 g de difosfato de cloroquina em 20 ml de hidróxido de sódio *M*. Transferir, quantitativamente, para funil de separação de 250 ml e extrair com quatro porções de 25 ml de clorofórmio. Reunir os extratos clorofórmicos e evaporar em banho-maria até 10 ml. Acrescentar 40 ml de anidrido acético e titular com ácido perclórico 0,1 *M* SV determinando o ponto final potenciométricamente. Cada ml de ácido perclórico 0,1 *M* SV equivale a 25,794 mg de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$.

B. Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* (V.2.14). Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,8 g de difosfato de cloroquina para balão volumétrico de 200 ml e adicionar 100 ml de água. Agitar mecanicamente por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar. Filtrar, descartando os primeiros 50 ml do filtrado. Transferir 50 ml do filtrado para funil de separação e acrescentar 5 ml de hidróxido de amônio 6 *M*. Agitar e extrair com cinco porções de 25 ml de clorofórmio. Reunir os extratos clorofórmicos e lavar com 10 ml de água. Lavar a fase aquosa com 10 ml de clorofórmio. Evaporar os extratos clorofórmicos combinados em banho-maria até 10 ml. Adicionar 50 ml de ácido clorídrico a 0,1% (V/V) e continuar a evaporar até que o odor do clorofórmio não seja mais perceptível. Transferir a solução resultante para balão de 200 ml, lavando as paredes do frasco com ácido clorídrico a 0,1% (V/V) e completar o volume com o mesmo solvente. Diluir, sucessivamente, em ácido clorídrico a 0,1% (V/V), até concentração de 0,001% (p/V). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando ácido clorídrico a 0,1% (V/V) como solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 343 nm, utilizando o mesmo solvente para ajuste do

zero. Calcular a quantidade de $C_{18}H_{26}ClN_3 \cdot 2H_3PO_4$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

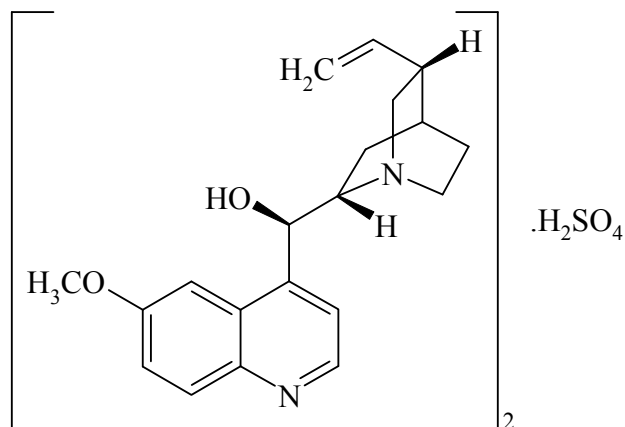
EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados, protegidos da luz e em temperatura controlada.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFATO DE QUININA
Quinini sulphas



$(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4$

746,93

07583

$(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$

782,96

Sulfato de (8 α ,9R)-6'-metoxicinchonon-9-ol diidratado

Sulfato de quinina é o sal de um alcalóide obtido de espécies de *Cinchona*. Contém, no mínimo, 99,0% e, no máximo, 101,0% de sais de alcalóides totais, calculado como $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4$, em relação à substância anidra.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Agulhas ou hastes disformes, tornando-se marrons com a exposição à luz.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, muito solúvel em água fervente, solúvel em etanol, pouco solúvel em clorofórmio, muito pouco solúvel em éter etílico.

Constantes físico-químicas

Poder rotatório específico (V.2.8): -235° a -245° . Determinar em solução a 2% (p/V) em ácido clorídrico 0,1 M.

IDENTIFICAÇÃO

A. A solução da amostra a 0,05% (p/V) em ácido sulfúrico a 0,3% (V/V) apresenta fluorescência azul, que desaparece com a adição de gotas de ácido clorídrico.

B. A mancha principal do cromatograma da *solução (1)*, obtida em *Pureza cromatográfica*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *solução (2)*.

C. A solução a 2% (p/V) acidificada com algumas gotas de ácido clorídrico responde às reações do íon sulfato (V.3.1.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Substâncias insolúveis em etanol e clorofórmio. Aquecer 2 g da amostra com 15 ml de mistura de clorofórmio e etanol anidro (2:1) a 50 °C por 10 minutos. Filtrar à vácuo em funil de vidro sinterizado. Lavar o filtro com 5 porções de 10 ml de mistura de clorofórmio e etanol anidro (2:1). Secar o resíduo a 105 °C, por uma hora e pesar. O peso do resíduo não é maior que 2 mg (0,1%).

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Cromatografia em camada delgada* (V.2.17.1), utilizando sílica-gel, como suporte, e mistura de clorofórmio, acetona e dietilamina (5:4:1), como fase móvel. Não saturar a cuba previamente. Aplicar, separadamente, à placa, 10 µl de cada uma das soluções, recentemente preparadas, descritas a seguir.

Solução (1): solução da amostra a 6 mg/ml em mistura de etanol e água (1:1).

Solução (2): solução de sulfato de quinina SQR a 6 mg/ml em mistura de etanol e água (1:1).

Solução (3): diluir 1 ml da *solução (2)* para 100 ml com mistura de etanol e água (1:1).

Solução (4): solução de quinina SQR e de cinchonidina a 0,05 mg/ml e 0,1 mg/ml, respectivamente, em mistura de etanol e água (1:1).

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido acético glacial. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm). Quaisquer manchas secundárias obtidas no cromatograma com a *solução (1)*, referentes à quinina e cinchonidina, não são mais intensas que aquelas obtidas com a *solução (4)* (0,83% e 1,67%, respectivamente). Quaisquer outras manchas obtidas no cromatograma com a *solução (1)*, diferentes da principal e daquelas referentes à quinina e cinchonidina, não são mais intensas que a mancha principal obtida com a *solução (3)* (1,0%).

Limite de sulfato de diidroquinina. Proceder conforme descrito em *Cromatografia líquida de alta eficiência* (V.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 235 nm; coluna de 300 mm de comprimento e 3,9 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (3 µm a 10 µm); fluxo da fase móvel de 1 ml/minuto.

Solução de ácido metanossulfônico: transferir 20 ml de ácido acético glacial e 35 ml de ácido metanossulfônico para balão volumétrico de 500 ml e completar o volume com água. Homogeneizar.

Solução de dietilamina: transferir 10 ml de dietilamina para balão volumétrico de 100 ml e completar o volume com água. Homogeneizar.

Fase móvel: mistura de água, acetonitrila, *solução de ácido metanossulfônico* e *solução de dietilamina* (860:100:20:20). Ajustar o pH em 2,6 com *solução de dietilamina* se o pH medido for inferior a este valor.

Solução de resolução: transferir 10 mg de sulfato de quinina e 10 mg de diidroquinina para balão volumétrico de 50 ml. Dissolver em 5 ml de metanol e completar o volume com *fase móvel*.

Solução teste: transferir, exatamente, cerca de 20 mg da amostra para balão volumétrico de 100 ml. Dissolver e completar o volume com a *fase móvel*. Homogeneizar.

Injetar replicatas de 50 µl da *solução de resolução*. Os tempos de retenção relativos são cerca de 1,0 para quinina e 1,5 para diidroquinina. A resolução entre quinina e diidroquinina não é menor que 1,2. O desvio padrão relativo das áreas de replicatas dos picos registrados não é maior que 2,0%.

Procedimento: injetar 50 µl da *solução teste*, registrar o cromatograma e medir a área dos picos. A área do pico referente à diidroquinina não é maior que 10,0% da área do pico referente à quinina.

Metais pesados (V.3.2.3). No máximo 0,001% (10 ppm).

Água (V.2.20.1). Entre 4,0% e 5,5%.

Cinzas sulfatadas (V.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso* (V.3.4.5). Dissolver 0,2 g da amostra em 10 ml de clorofórmio. Acrescentar 20 ml de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV determinando o ponto final potenciometricamente. Cada ml de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 24,898 mg de $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2 \cdot H_2SO_4$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

SULFATO DE QUININA COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de $(C_{20}H_{24}N_2O)_2.H_2SO_4.2H_2O$.

IDENTIFICAÇÃO

A. Pesar e pulverizar os comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de sulfato de quinina para balão volumétrico de 100 ml. Acrescentar 70 ml de ácido sulfúrico a 0,3% (V/V) e deixar em ultra-som por 10 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente. Filtrar. O filtrado apresenta fluorescência azul, que desaparece após adição de algumas gotas de ácido clorídrico.

B. A mancha principal do cromatograma da *solução (1)*, obtida em *Pureza cromatográfica*, corresponde em posição, cor e intensidade àquela obtida com a *solução (2)*.

C. O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *solução amostra*, obtida no método B de *Doseamento*, corresponde àquele do principal da *solução padrão*.

D. Pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente 20 mg de sulfato de quinina com 10 ml de ácido clorídrico a 1% (V/V) e filtrar. A solução obtida responde às reações do íon sulfato.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (V.1.1). Cumpre o teste

Teste de dureza (V.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (V.1.3.2). Cumpre o teste

Teste de desintegração (V.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (V.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Transferir cada comprimido para balão volumétrico de 250 ml e acrescentar 175 ml de ácido clorídrico a 1% (V/V). Agitar mecanicamente por 30 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e homogeneizar. Filtrar, descartando os primeiros 20 ml do filtrado. Diluir, sucessivamente, com o mesmo solvente, até concentração de 0,004% (p/V). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções em 345 nm (V.2.14), utilizando água para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $(C_{20}H_{24}N_2O)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ nos comprimidos a partir das leituras obtidas.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (V.1.5)

Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,01 M, 900 ml

Aparelhagem: cestas, 100 rpm

Tempo: 45 minutos

Procedimento: após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em ácido clorídrico 0,01 M até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 248 nm (V.2.14), utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de $(C_{20}H_{24}N_2O)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de sulfato de quinina SQR na concentração de 0,001% (p/V), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: não menos que 75% (Q) da quantidade declarada de $(C_{20}H_{24}N_2O)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ se dissolvem em 45 minutos.

ENSAIOS DE PUREZA

Pureza cromatográfica. Proceder conforme descrito em *Pureza cromatográfica* na monografia de *Sulfato de quinina*. Preparar a *solução (1)* como descrito a seguir.

Solução (1): pesar e pulverizar os comprimidos. Agitar quantidade do pó equivalente a 0,15 g de sulfato de quinina com 25 ml de mistura de etanol e água (1:1) por 10 minutos e filtrar. Utilizar o filtrado.

Desenvolver o cromatograma. Remover a placa, deixar secar ao ar. Nebulizar com ácido acético glacial. Examinar sob luz ultravioleta (365 nm). Quaisquer manchas secundárias obtidas no cromatograma com a *solução (1)*, referentes à quinina e cinchonidina, não são mais intensas que aquelas obtidas com a *solução (4)* (0,83% e 1,67%, respectivamente). Quaisquer outras manchas obtidas no cromatograma com a *solução (1)*, diferentes da

principal e daquelas referentes à quinina e cinchonidina, não são mais intensas que a mancha principal obtida com a *solução (3)* (1,0%).

DOSEAMENTO

Empregar um dos métodos descritos a seguir.

A. Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não-aquoso* (V.3.4.5). Pesar e pulverizar 20 comprimidos. Dissolver quantidade do pó equivalente a 0,4 g de sulfato de quinina em 40 ml de anidrido acético usando aquecimento, se necessário. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV utilizando cloreto de metilrosanilínio SI (cristal violeta) como indicador até mudança de cor de azul para azul-esverdeado. Cada ml de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 26,099 mg de $(C_{20}H_{24}N_2O)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$.

B. Proceder conforme descrito em *Limite de sulfato de diidroquinina* na monografia de *Sulfato de quinina*. Preparar as *soluções padrão* e *amostra* como descrito a seguir.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade do pó equivalente a 0,16 g de sulfato de quinina para balão volumétrico de 100 ml. Acrescentar 80 ml de metanol e agitar mecanicamente por 30 minutos. Completar o volume com o mesmo solvente e filtrar, descartando os primeiros 10 ml do filtrado. Transferir 3 ml do filtrado para balão volumétrico de 25 ml e completar o volume com *fase móvel*. Homogeneizar.

Solução padrão: transferir, exatamente, cerca de 20 mg de sulfato de quinina SQR para balão volumétrico de 100 ml. Dissolver e completar o volume com *fase móvel*. Homogeneizar.

Procedimento: injetar, separadamente, 50 µl das *soluções padrão* e *amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular a quantidade de $(C_{20}H_{24}N_2O)_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 2H_2O$ nos comprimidos a partir da soma das respostas dos picos relativos à quinina e diidroquinina obtidas com as *soluções padrão* e *amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem-fechados.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

ANEXO C

Resumo apresentado no Seminário Henrique Aragão e a Pesquisa sobre Malária, comemorativo dos 100 anos da descoberta do ciclo exoeritrocítico da malária.

AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE ANTIMALÁRICOS NO SISTEMA DE SAÚDE DO BRASIL.

NOGUEIRA, F.H.A.¹, MOREIRA-CAMPOS, L.M.¹, DOS SANTOS, R.L.C.², PIANETTI, G.A.¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. Departamento de produtos farmacêuticos. Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos e Cosméticos - Belo Horizonte, Minas Gerais

²Universidade Federal do Sergipe, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde – Aracajú, Sergipe

Introdução: O surgimento de resistência aos medicamentos é um dos graves problemas observados no tratamento de malária, principalmente quando se tem um arsenal terapêutico limitado. A observação de que o uso de anti-infecciosos de má qualidade ou falsos podem contribuir para a seleção de parasitas pôs em foco mundial a qualidade dos medicamentos. A estabilidade dos medicamentos é outro importante fator que deve ser considerado.

Objetivo: Verificar a qualidade e avaliar a estabilidade dos antimaláricos distribuídos pelo sistema público de saúde.

Materiais e Métodos: Amostras de comprimidos de difosfato de cloroquina, cloridrato de mefloquina, difosfato de primaquina e sulfato de quinina foram armazenadas em um almoxarifado central com condições aceitáveis de estocagem, em três armazéns estaduais e duas unidades básicas de saúde situadas em três estados da região norte do Brasil, totalizando dez locais visitados. Após cinco meses de permanência, as amostras foram recolhidas e submetidas às análises completas segundo métodos farmacopéicos e da literatura especializada. A correlação entre a qualidade dos medicamentos, segundo as condições de armazenagem, foi realizada por métodos estatísticos.

Resultados: As condições de armazenagem dos medicamentos, embora não adequadas nos estados, não influenciaram a qualidade das amostras de cloroquina, primaquina e quinina. Falhas de acondicionamento e problemas de produção foram observadas nos lotes de primaquina e quinina, tanto nos estados quanto no almoxarifado central. O teste de dissolução da mefloquina das amostras armazenadas em algumas regiões, quando comparadas àquelas do almoxarifado central, mostrou diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) das porcentagens de cedência do fármaco.

Conclusões: Os problemas encontrados nos lotes estudados estão ligados mais ao processo produtivo do que diretamente à armazenagem. Entretanto foi verificada queda na porcentagem de cedência do fármaco em um dos lotes estudados, indicando provável influência das condições de armazenamento. Para a garantia da qualidade dos medicamentos a armazenagem é fator imprescindível a fim de permitir que estes tenham vida útil compatível com os prazos de validade evitando, assim, perdas desnecessárias. A pesquisa forneceu dados úteis ao gestor público de

programas sociais, em sua constante preocupação com a qualidade dos medicamentos distribuídos. Paralelamente, a pesquisa conduziu para o desenvolvimento e validação de métodos analíticos que serão considerados oficiais no Brasil.

* Este trabalho teve o suporte da: OPAS – RAVREDA/AMI, Agência Norte-Americana para o Desenvolvimento Internacional (USAID), Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS) do Ministério da Saúde e Farmacopéia Brasileira.