

Desenvolvimento de método analítico para determinação dos produtos de degradação dos fármacos antirretrovirais Lopinavir e Ritonavir.

Luana Regina Baratelli. C. Mendes *(IC), Bruna Rodrigues (PG), Mariah Ultramari (PG), Natália G. de Figueiredo, (PG), Ernani Pinto (PQ)

*email: luana.regina.mendes@usp.br

Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas - Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo - Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - CEP: 05508-900 São Paulo, SP.

Palavras Chave: lopinavir, ritonavir, produtos de degradação, SPE, HPLC-PDA

Introdução

A qualidade dos medicamentos está diretamente relacionada com a estabilidade do fármaco, avaliada pelas normativas da ANVISA¹. Os produtos de degradação são originados do fármaco e/ou excipientes, devido a, por exemplo, reações de oxidação ou fotólise. Dados da OMS de 2009 estimam que cerca de 4,03 milhões de pessoas portadoras do HIV receberam antirretrovirais², demonstrando que a importância do estudo com esse medicamento.

O presente trabalho estuda a degradação do medicamento Kaletra®, da Abbott, composto por antirretrovirais Lopinavir (LPV) e Ritonavir (RTV), utilizados para o tratamento da AIDS/HIV. Para se obter os produtos de degradação foram realizados os testes de degradação forçada, submetendo as soluções em hidrólise ácida, hidrólise neutra, hidrólise básica e oxidação.

Resultados e Discussão

Primeiramente foram preparadas soluções de LPV e RTV em MeOH 100% nas concentrações de 200µg/mL e 50µg/mL respectivamente. Um comprimido foi colocado em um balão de 25 mL contendo 15 mL de DCM 100% e submetido a homogeneização em vortéx por 5 min. Logo após o volume foi acertado. 300 µL da solução foi submetida a uma SPE (Solid Phase Extraction) utilizando o cartucho de sílica Strata 500mg/3mL para eliminar os excipientes que interferem na análise cromatográfica. A solução percolada pelo cartucho foi eluída em 100% de metanol e, após secagem sob fluxo de N₂, analisada por HPLC-PDA com detecção em λ=210nm. Foi utilizada como fase estacionária a coluna Luna C18 (250x4,60mm diâmetro de partícula de 5 µm) e fase móvel composta por MeOH:H₂O (70:30, v/v), com um fluxo isocrático de 1mL/min. A eficiência do método foi verificada de acordo com a RE 899 da ANVISA sobre validação de métodos. Na figura 1, o cromatograma A representa a separação dos ativos LPV e RTV em uma mesma solução. O cromatograma B apresenta como exemplo o produto de degradação da reação de hidrólise neutra do ativo RTV. O ativo LPV foi submetido a mesma reação e se mostrou estável.

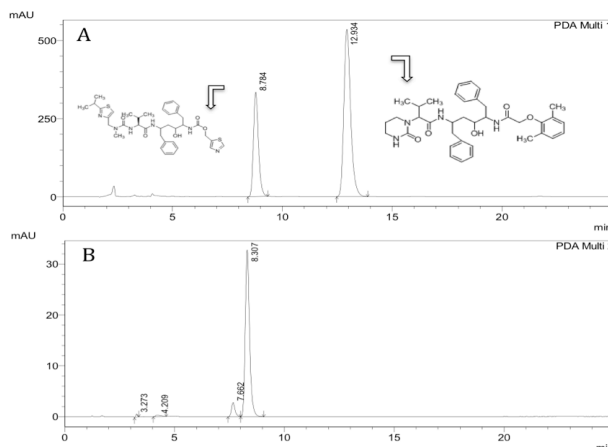


Figura1.: A) Cromatograma do princípio ativo Lopinavir RT=12,934 min e do Ritonavir Rt=8,764 min; B) Cromatograma do princípio ativo Ritonavir (Rt=8,307 min) e do seu produto de degradação da hidrólise neutra (Rt=7,662 min).

Os cromatogramas acima comprovam a eficiência do método na separação e detecção dos produtos de degradação dos compostos em análise.

Para identificação dos produtos de degradação, foi utilizada a técnica de Espectrometria de Massas, em modo de ionização por eletrospray em modo positivo e IonTrap como analisador de massas. O principal produto de degradação do LPV apresentou m/z=447,3 e do RTV m/z=426,3 representados na figura 2.

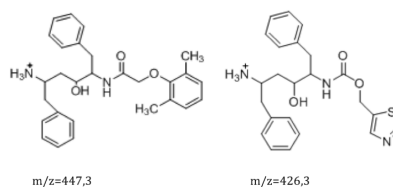


Figura 2: Principais produtos de degradação dos ativos LPV (m/z=447,3) e RTV (m/z=426,3).

Conclusões

O método desenvolvido é capaz de separar com eficiência os produtos de degradação de ambos ativos e com auxílio da Espectrometria de Massas foi possível identificar os principais produtos de degradação.

Agradecimentos.

CAPES, FAPESP, CNPq, Programa DST-AIDS.

¹ANVISA, Resolução RE n° 398, 2004.