

**ESTUDO COMPARATIVO DO PONTO DE FUSÃO DE ATIVOS
FARMACÊUTICOS DO LAFEPE® UTILIZANDO CALORIMETRIA
EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL – DSC E FUSIÔMETRO**

*Comparative study of melting point of LAFEPE® assets pharmaceuticals
using Differential Scanning Calorimetry - DSC and melting point apparatus*

FERNANDA DE SOUZA BASTOS CARVALHO BOMFIM¹

SEVERINO GRANGEIRO JÚNIOR²

MARCOS ANDRÉ CUNHA DE OLIVEIRA³

RACHEL DOMINGOS DE ARAÚJO LEMOS⁴

Autor Responsável: F.S.B.C. Bomfim. E-mail: nandalizbastos@hotmail.com

1. Acadêmica de graduação do curso de Farmácia da Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS/IMIP).
2. Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Pernambuco; Farmacêutico Industrial no Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco; Tutor da Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS/IMIP).
3. Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Pernambuco; Farmacêutico Industrial no Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco; Tutor da Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS/IMIP).
4. Fisioterapeuta pela Universidade Federal de Pernambuco; Técnica em Qualidade Industrial no Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco.

RESUMO

Na indústria farmacêutica, o controle de qualidade é o conjunto de medidas destinadas a verificar a qualidade de cada lote de medicamentos e demais produtos abrangidos para que satisfaçam às normas de atividade, pureza, eficácia e inocuidade. Dentre elas existe o teste de determinação de ponto de fusão que além de identificar a substância também demonstra seu grau de pureza. O presente estudo tem como objetivo comparar duas técnicas de determinação de ponto de fusão, utilizando o fusiômetro e o DSC (Calorimetria Exploratória Diferencial). As análises foram feitas em cinco diferentes princípios ativos e submetidas a tratamento estatístico através do Teste T-Student. Os resultados obtidos apoiam a superioridade do DSC em relação ao fusiômetro.

Palavras chaves: Ponto de Fusão; DSC; Fusiômetro.

ABSTRACT

In the pharmaceutical industry, quality control is the set of measures to check the quality of each batch of drugs and other products subject to complying with the standards activity, purity, effectiveness and safety. Among them there is the test for determining melting point and identify the substance also demonstrates its purity. The study aims to compare two techniques of determination of melting point, using the melting point apparatus and the DSC (Differential Scanning Calorimetry). Analyses were performed in five different active ingredients and subjected to statistical analysis by T- Student test. The results obtained support the superiority of the DSC relative to melting point apparatus.

Keywords: Melting point; DSC; Melting Point Apparatus

INTRODUÇÃO

O controle de qualidade de uma indústria farmacêutica desempenha papel importante na garantia da qualidade do produto final, acompanhando por meio de testes físicos e físico-químicos realizados nas matérias-primas, produto em processo e produto acabado.¹ Os testes efetuados nas matérias-primas são primordiais para minimizar erros consequentes possíveis durante o processo de produção do medicamento. Dentre os muitos testes desenvolvidos está o de identificação, que visa assegurar que se trata da matéria-prima esperada.²

Diversas análises são consideradas teste de identificação, entre elas estão as que envolve calor, as análises térmicas. Análises térmicas ou técnicas termoanalíticas, que tem como princípio a calorimetria, são largamente utilizadas devido às suas possíveis utilidades em diversos tipos de materiais.³ O calor fornecido ou retirado provoca mudanças nos materiais e tais mudanças podem ser industrialmente úteis e importantes ou mesmo indesejáveis no caso de deteriorização. Os principais eventos térmicos ocorridos são mudança de fase, sublimação, decomposição, transição vítrea, oxidação, redução, combustão, volatilização/sublimação, catálise heterogênea, adição, decomposição dupla e ponto de fusão.⁴

O ponto de fusão de uma substância é uma propriedade física, um evento térmico que pode ser considerado como teste de identificação. É entendido por ponto de fusão a temperatura em que uma substância passa do estado sólido para o estado líquido. A uma determinada pressão, o ponto de fusão de uma substância, é um valor constante, fator característico de uma substância pura, e por isso a sua determinação constitui um dos métodos pelo qual pode-se calcular o grau de pureza desta substância.⁵

Conhecer as propriedades térmicas pode levar à melhoria no processo, transporte, conservação e aplicação de determinados tipos de materiais. É também útil saber quais os produtos voláteis e resíduos gerados em caso de decomposição, sobre sua ação biológica e ambiental.⁶

A análise térmica envolve uma série de técnicas que medem as propriedades físicas dos materiais em função da temperatura, quando estes são submetidos a um ciclo térmico, a exemplo dessas técnicas, temos a Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC.⁷

Historicamente, a Calorimetria Exploratória Diferencial tem sido empregada na área de pesquisa e desenvolvimento, entretanto, mais recentemente, tem sido utilizada também em aplicações práticas, como por exemplo, em controle de qualidade de produção, controle de processo e inspeção de materiais.⁸

A calorimetria exploratória diferencial é uma técnica que possibilita avaliar os fenômenos energéticos, físicos e/ou químicos produzidos durante o aquecimento de uma substância. Sob um programa controlado de temperatura, essa técnica permite medir o fluxo de calor diferencial entre a amostra e um material de referência termicamente inerte em função da temperatura e/ou tempo de aquecimento. A amostra e o material de referência são mantidos aproximadamente a mesma temperatura durante o experimento. Podem-se determinar as variações de entalpia, as mudanças de calor específico e a temperatura de eventos endotérmicos e exotérmicos. De acordo com o método de medição utilizado, há duas modalidades: o DSC com compensação de potência e o DSC com fluxo de calor.⁹

Para este trabalho, foi utilizado o DSC com compensação de potência, constituído por uma célula calorimétrica que contém dois fornos, um para o material de referência e o outro para a amostra. Em contrapartida, para efeito de comparação de técnicas, foi utilizado fusiômetro de Placa de Peltier, que tem como princípio o método do capilar fechado, geralmente aplicado para substâncias facilmente transformadas em pó. O capilar de vidro borossilicato deve ser fechado em uma das extremidades e ter aproximadamente 8 a 9 cm de comprimento, 0,8 a 1,2 mm de diâmetro interno e paredes com 0,10 a 0,30 mm de espessura. Para observar o tubo capilar deve-se empregar lente de aumento e como fonte de calor, utiliza-se chapa elétrica. Tanto a lente de aumento quanto a chapa elétrica são partes do equipamento. Para acompanhamento da temperatura, utiliza-se termômetro acoplado.⁹

O objetivo deste trabalho foi comparar duas diferentes técnicas, que utiliza fusiômetro e Calorimetria Exploratória Diferencial - DSC, para análise de Ponto de Fusão, evidenciando as vantagens e outras aplicações da técnica mais recente, a do DSC em relação a outra técnica que utiliza fusiômetro.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi do tipo experimental. Foram realizados testes de ponto de fusão de cinco amostras de cinco matérias-primas distintas, totalizando vinte e cinco amostras, sendo elas: Zidovudina, Lamivudina, Propranolol, Paracetamol e Captopril. Estas amostras foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar. As matérias-primas foram escolhidas segundo a rotina do LAFEPE (Laboratório Farmacêutico do Estado de

Pernambuco), baseando-se na frequência de produção no período de realização dos testes para este trabalho.

No primeiro grupo, os pontos de fusão dessas substâncias foram analisados no LAFEPE, na divisão físico-química do controle de qualidade, utilizando a metodologia do equipamento de Calorimetria Diferencial Exploratória DSC, da marca Perkin Elmer, modelo DSC 8000, por compensação de potência, provido de dois fornos para amostra e referência, que utiliza de gás nitrogênio para seu funcionamento (Figuras 1 a 3).

As amostras foram preparadas utilizando balança analítica da marca Sartorius, modelo CP225D, pesando entre 4mg e 10mg de cada amostra, conforme metodologia do fabricante. Para tanto, foram utilizados recipientes apropriados de alumínio com tampa, onde uma prensa foi usada para fechar o recipiente (Figura 4). A referência foi confeccionada utilizando recipiente vazio com tampa.

Já no segundo grupo, os pontos de fusão das amostras foram realizados na FPS (Faculdade Pernambucana de Saúde), no Laboratório Multidisciplinar de Farmácia, utilizando fusiômetro de placa de Peltier, da marca Fisatom, modelo 430, cujo princípio é o método do capilar fechado, onde a porção do pó foi introduzida e compactada no tubo capilar seco, batendo o capilar sobre superfície dura de modo a formar coluna de aproximadamente 3 a 4 mm de altura. O capilar foi introduzido no orifício correspondente, aliado a um termômetro para acompanhamento da temperatura durante a análise (Figuras 5 e 6).

Tanto os resultados dos pontos de fusão em DSC, obtidos através da formação de picos que revelam o início e final da fusão, quanto os resultados obtidos em fusiômetro,

onde a obtenção é visual, foram registrados em tabela. Esses dados receberam tratamento estatístico através de uma análise intergrupo utilizando o Teste T de Student, com margem de segurança de 95%, por meio da ferramenta Microsoft Excel 2013.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente trabalho foi realizado um estudo comparativo de duas técnicas para obtenção de ponto de fusão, fazendo uso de fusiômetro e DSC, em amostras de Zidovudina, Lamivudina, Paracetamol, Captopril e Propranolol. As amostras foram coletadas no LAFEPE, escolhidas conforme rotina do laboratório. Cinco lotes de cada princípio ativo foi utilizado, de um mesmo fornecedor para cada ativo, tendo portanto a mesma rota de síntese, totalizando vinte e cinco amostras, que foram submetidas primeiramente aos testes em DSC, no LAFEPE, num período de dois meses e os resultados obtidos encontram-se na tabela 1 dos anexos.

No software do equipamento de DSC é criado um método de análise para cada substância. As temperaturas iniciais e finais são baseadas na faixa de fusão, sendo 50°C menor que a temperatura mínima e 50°C maior que a temperatura máxima.¹⁰ Essa programação propicia uma segurança no resultado, permitindo avaliar os eventos que possam ocorrer antes e depois da fusão.

Para os testes feitos em DSC, a resposta foi bem satisfatória, conforme o esperado para esta técnica. Em duas das vinte e cinco análises, os resultados encontram-se fora da especificação, o lote 17295 de Propranolol e o lote 17436 de Paracetamol. Tais amostras foram submetidas a repetição e os resultados permaneceram fora da especificação, o Propranolol lote 17295 fundiu em 162,82°C e o Paracetamol lote 17436 fundiu em 158,37°C.

Nos gráficos de DSC podemos observar a formação do pico, que no caso de ponto de fusão, as reações são sempre endotérmicas, ou seja, há o recebimento de calor, onde a amostra apresenta mudança do seu estado físico.¹¹ No início da curva é observada uma alteração da linha de base que representa a transição vítrea (T_g). Trata-se de um evento endotérmico, uma alteração na capacidade calorífica, evento considerado o ponto de amolecimento do material ou a fusão das regiões amorfas de um material semicristalino (Figura 7).¹²

Nas figuras de 8 a 12 dos anexos, visualizamos os gráficos dos cinco ativos trabalhados: Zidovudina, Lamivudina, Captopril, Propranolol e Paracetamol. A temperatura a ser considerada como ponto de fusão é a onset, conforme metodologia do fabricante do equipamento. Esta é a temperatura onde ocorre a transição da fase sólida para a fase líquida, formando em seguida o pico de fusão.

O tamanho do pico deve-se a quantidade de material utilizado, que pode variar entre 4mg e 10mg. Este não é um fator relevante para o resultado, nem é indicativo de algum evento ou alteração na amostra. Já a área do pico é fator importante na determinação da pureza da amostra. Quanto menor a área, maior é a pureza da substância. Essa técnica também permite visualizar a presença de polimorfismo, pureza de pico, transição vítrea, interação fármaco/excipiente, fatores determinantes na pesquisa e desenvolvimento e produção de medicamentos.¹³

Apesar de se tratar de uma técnica que envolve alto custo, as vantagens em relação à pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos, bem como na qualidade da produção de medicamentos são superiores, visto que ela aborda diversos aspectos importantes na avaliação e escolha da matéria-prima ideal.

No caso da técnica que envolve o Fusiômetro, oito amostras se apresentaram fora dos limites da especificação. Essas amostras foram submetidas a repetição e fundiram nas mesmas temperaturas da primeira análise. O Paracetamol, por exemplo, teve todos os resultados abaixo do valor permitido. Trata-se de uma técnica pouco segura, em virtude de que a observação do resultado é meramente visual, onde o analista visualiza a mudança da fase sólida para a líquida por meio de uma lente de aumento do próprio equipamento, ao mesmo tempo que observa a temperatura no termômetro acoplado e faz a anotação manual desse resultado. Apesar de ser amplamente usada e de baixo custo, a técnica pode ser falha. Os valores podem variar, dependendo do analista, da calibração do termômetro, bem como da velocidade de resfriamento do equipamento. Os resultados são apenas do ponto de fusão da amostra.

Os dados foram sujeitos a tratamento estatístico por meio de teste T de Student, sendo realizada uma análise intergrupo, com margem de segurança de 95%, segundo tabela 2 dos anexos. Observou-se que apenas a Zidovudina teve resultado estatístico não significativo no Teste T de Student, com valor acima do T crítico Bicaudal. Entretanto, todas as amostras de Zidovudina ficaram dentro da especificação da faixa de fusão, conforme tabela 1 dos anexos, aspecto que se sobrepõe a estatística no que diz respeito a análise e seleção da matéria-prima para produção de medicamentos.

CONCLUSÃO

Pelo presente estudo, conclui-se que o DSC é mais vantajoso que o Fusiômetro, no sentido da segurança na análise, programação do método e precisão dos resultados. Ainda que o Fusiômetro seja extensamente utilizado, pelo custo reduzido e praticidade na análise, sua resposta se resume ao ponto de fusão e é mais imprecisa. Enquanto que o

DSC oferece outras utilidades para a indústria farmacêutica na análise de matérias-primas, assegurando a qualidade do produto final, bem como sua praticabilidade na pesquisa e desenvolvimento.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) pela disponibilidade das matérias-primas, estrutura física e equipamentos para realização deste trabalho. À Faculdade Pernambucana de Saúde (FPS) pelo apoio acadêmico e disponibilidade de equipamento e estrutura física.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Resolução RDC N° 17, de 16 de abril de 2010.
2. Amorim SR, Klier AH, Angelis LH. Controle de qualidade na indústria farmacêutica: identificação de substâncias por espectroscopia no infravermelho. Rev. Bras. Farm., 2013. 94 (3): 234-242.
3. Oliveira MA, Yoshida MI, Gomes ECL. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. Quim. Nova, 2011. 34(7):1224-1230.
4. Young HD, freedman RA. Física II: Termodinâmica e Ondas. 10ª ed. São Paulo, Pearson Addison Wesley. 2003.
5. Russell JB. Química Geral. Vol.1. São Paulo: Pearson Education do Brasil, Makron Books, 1994.

6. Denari GB, Carvalheiro ETG. Princípios e Aplicações de Análise Térmica São Paulo, IQSC 2012.
7. Bazzo GC, Silva MAS. Estudo termoanalítico de comprimidos revestidos contendo captopril através de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, Santa Catarina, 2005. 41(3):316.
8. Brown ME. Introduction to Thermal Analysis. 1ª ed. Chapman and Hall, London, 1988.
9. Brasil. ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Farmacopeia Brasileira 5º ed. Brasília, 2010. 1:82, 145.
10. Manual do fabricante Perkin Elmer. DSC 8000. USA, 2009.
11. Tentardini EK, Matos TF. Caracterização Termofísica de Materiais por Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC). Projeto de Cooperação Sul-Americana em Identificação de Propriedades Físicas em Transferência de Calor e Massa. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. 2005. 1(12):6-7.
12. Gabbott P. The Principles and Applications of Thermal Analysis, Wiley-Blackwell: London, 2007.
13. Moreira GF, Balbo A, Achete CA, Barin JS, Wollinger W, Nogueira R, Bittencourt CF, Rodrigues JM. Aplicação da Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) para Determinação da Pureza de Fármacos. Produto & Produção Edição Metrologia, 2010. 11(1):22 – 29.

ANEXOS

Tabela 1 - Resultados dos Testes de DSC e Fusiômetro

| AMOSTRAS | FAIXAS DE FUSÃO | RESULTADOS DSC | RESULTADOS FUSIÔMETRO | |
|--------------------|----------------------|-----------------|-----------------------|-------|
| ZIDOVUDINA | | | | |
| LT 17281 | | 123.87°C | 120°C | |
| LT 17488 | Em torno de 124°C | 122.97°C | 120°C | |
| LT 17489 | | 123.20°C | 120°C | |
| LT 17490 | | 123.36°C | 118°C | |
| LT 17491 | | 123.23°C | 119°C | |
| LAMIVUDINA | | | | |
| LT 17422 | | 177.32°C | 176°C | |
| LT 17426 | | 177.20°C | 177°C | |
| LT 17428 | 176 – 178°C | 177.01°C | 176°C | |
| LT 17457 | | 177.76°C | 174°C | |
| LT 17458 | | 177.88°C | 178°C | |
| CAPTOPRIL | | | | |
| LT 17139 | | | 106.88°C | 107°C |
| LT 17141 | | 106.85°C | 107°C | |
| LT 17259 | 105 – 108°C | 106.84°C | 107°C | |
| LT 17261 | | 106.87°C | 106°C | |
| LT 17262 | | 106.81°C | 106°C | |
| PROPRANOLOL | | | | |
| LT 17200 | | 163.01°C | 163°C | |
| LT 17294 | | 163.11°C | 163°C | |
| LT 17295 | 163 – 166°C | 162.87°C | 163°C | |
| LT 17296 | | 163.11°C | 162°C | |
| LT 17363 | | 163.41°C | 161°C | |
| PARACETAMOL | | | | |
| LT 16923 | | 169.65°C | 166°C | |
| LT 17018 | | 169.66°C | 167°C | |
| LT 17319 | 168 – 172°C | 169.75°C | 167°C | |
| LT 17388 | | 169.68°C | 165°C | |
| LT 17436 | | 159.28°C | 165°C | |

Tabela 2 – Teste T intergrupo de DSC e Fusiômetro

(Duas amostras presumindo variâncias equivalentes)

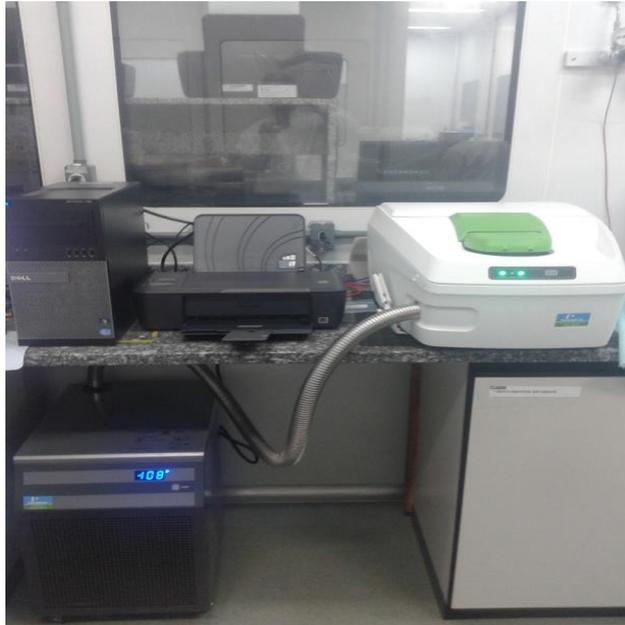
| | Zidovudina | | Lamivudina | | Captopril | | Propranolol | | Paracetamol | |
|---------------------|-------------------|-------|-------------------|-------|------------------|-------|--------------------|-------|--------------------|-------|
| | DSC | FUS | DSC | FUS | DSC | FUS | DSC | FUS | DSC | FUS |
| Média | 123,3 | 119,4 | 177,4 | 176,2 | 106,8 | 106,6 | 163,1 | 162,4 | 167,6 | 166,0 |
| T Crítico Bi-Caudal | 2,30 | | 2,30 | | 2,30 | | 2,30 | | 2,30 | |
| Stat t | 9,19 | | 1,46 | | 1,01 | | 1,71 | | 0,75 | |

Figura 1 – Aparelho de DSC, Modelo DSC 800, Perkin Elmer



Fonte: Bastos, 2015.

Figura 2 – Aparelho de DSC e Acessórios



Fonte: Bastos, 2015.

Figura 3 – Forno do aparelho de DSC



Fonte: Bastos, 2015.

Figura 4 – Recipientes de alumínio com tampa à direita e prensa à esquerda



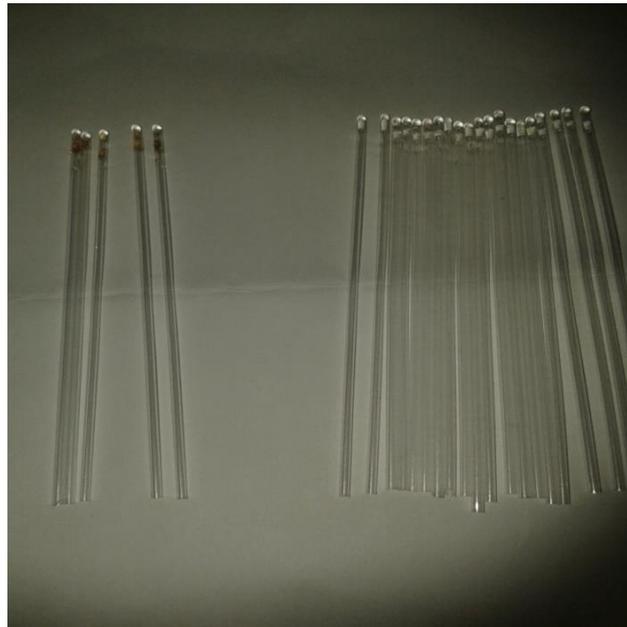
Fonte: Bastos, 2015.

Figura 5 – Fusiômetro de Placa de Peltier, Modelo 430, Fisatom



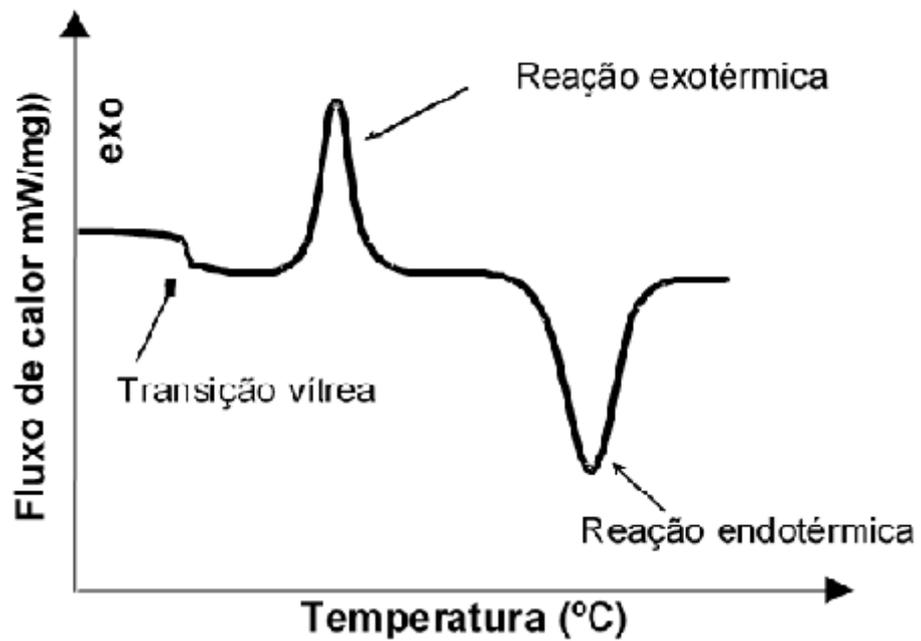
Fonte: Bastos, 2015.

Figura 6 – Capilares de vidro de Borossilicato



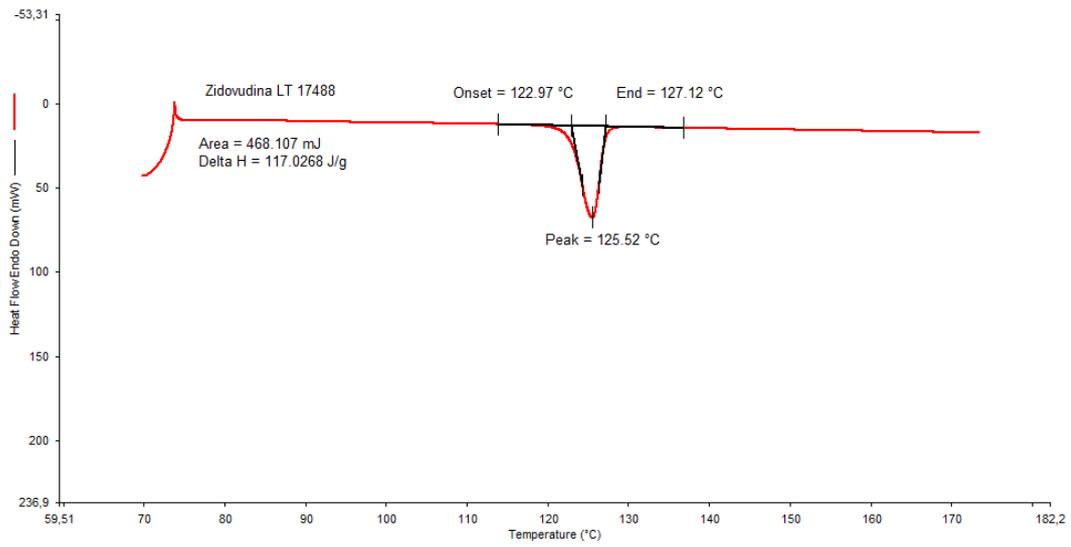
Fonte: Bastos, 2015.

Figura 7 – Exemplo de Curva obtida por DSC



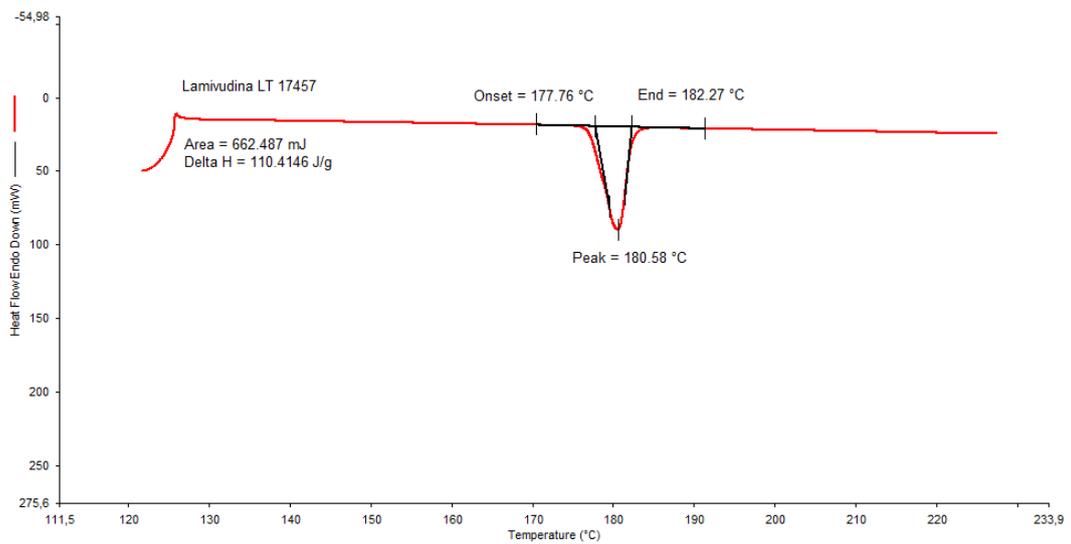
Fonte: Tentardini et. al., 2005.

Figura 8 – Exemplo de gráfico de DSC de Zidovudina



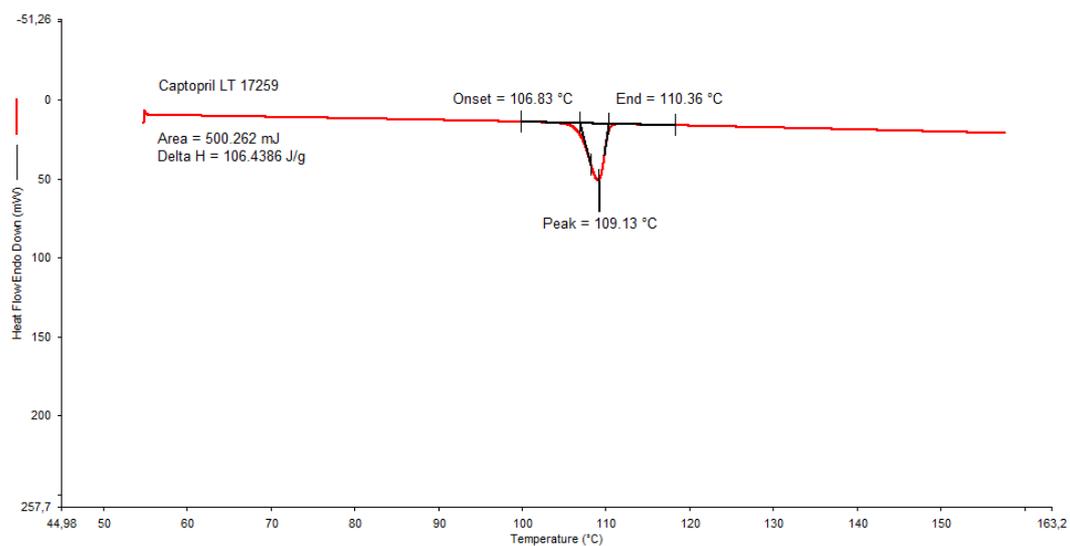
Fonte: Bastos, 2015.

Figura 9 – Exemplo de gráfico de DSC de Lamivudina



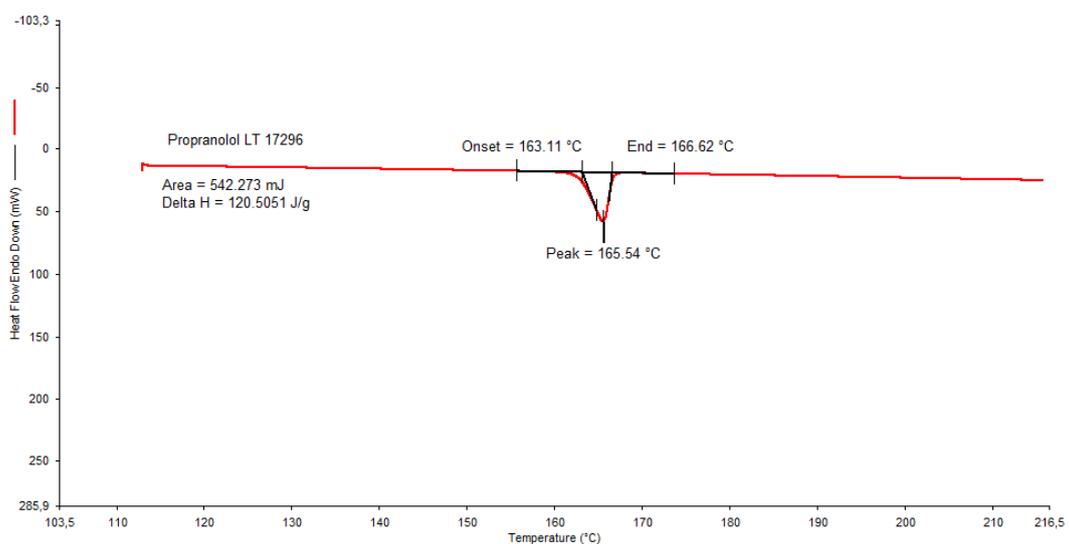
Fonte: Bastos, 2015.

Figura 10 – Exemplo de gráfico de DSC de Captopril



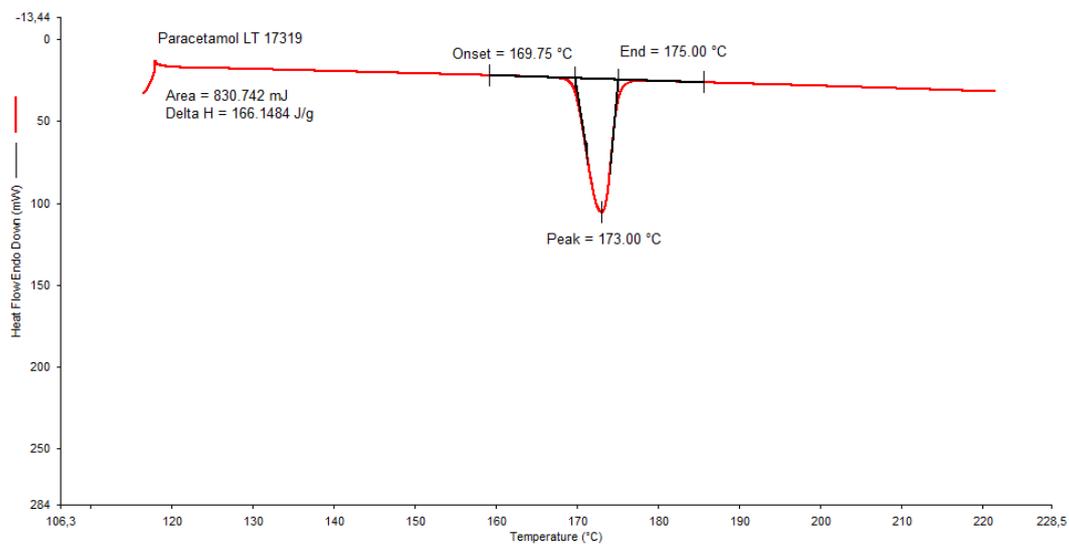
Fonte: Bastos, 2015.

Figura 11 – Exemplo de gráfico de DSC de Propranolol



Fonte: Bastos, 2015.

Figura 12 – Exemplo de gráfico de DSC de Paracetamol



Fonte: Bastos, 2015.