

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento de métodos físicos e químicos para distinção de amostras autênticas e falsificadas de sibutramina.

JÉSSICA GIL KNOBLOCH

Porto Alegre, 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Desenvolvimento de métodos físicos e químicos para distinção de amostras autênticas e falsificadas de sibutramina.

Dissertação apresentada por **Jéssica Gil Knobloch** para obtenção do TÍTULO DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Pedro Eduardo Fröhlich

Porto Alegre, 2015

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado – Desenvolvimento, Avaliação da Qualidade e Utilização de Insumos e Produtos Farmacêuticos e Cosméticos – da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 30.06.2015, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr^a. Aline Rigon Zimmer

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Andreas Sebastian Loureiro Mendez

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Martin Steppe

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Knobloch, Jéssica Gil

Desenvolvimento de métodos físicos e químicos para distinção de amostras autênticas e falsificadas de sibutramina. / Jéssica Gil Knobloch. -- 2015.
136 f.

Orientador: Pedro Eduardo Fröhlich.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. sibutramina. 2. falsificação. 3. perfil físico. 4. CL-EM. 5. espectroscopia de IV. I. Fröhlich, Pedro Eduardo, orient. II. Título.

APRESENTAÇÃO

De acordo com as normas vigentes no Estatuto do Programa de Pós-graduação em Ciências farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, a presente dissertação foi redigida na forma de capítulos, para melhor organização e discussão dos resultados obtidos em cada etapa. Assim, este trabalho encontra-se dividido da seguinte forma:

Introdução, contendo a caracterização, justificativa, formulação da hipótese de trabalho, bem como os objetivos do estudo;

Capítulos I e II, contendo:

- Introdução e Objetivos,
- Revisão bibliográfica do tema específico do capítulo,
- Materiais e Métodos,
- Resultados e Discussão,
- Conclusões,
- Referências.

Além dos itens dos Capítulos I e II, o Capítulo III contém a validação e a aplicação do método validado;

Discussão geral, visando um entendimento global dos resultados apresentados nas diferentes etapas do trabalho;

Conclusões;

Perspectivas;

Referências bibliográficas; e,

Anexos.

RESUMO

O comércio ilegal de medicamentos é um problema mundial que afeta milhões de pessoas todos os anos. A inclusão digital contribuiu para a ascensão das vendas, transformando-se no principal veículo de comércio de medicamentos falsificados no mundo. No Brasil, o número de medicamentos contrabandeados apreendidos pela Polícia Federal aumentou nos últimos anos, principalmente, nas regiões Sul e Sudeste. Sendo que grande parte destes, entraram pelo país pelo Paraguai. Os medicamentos falsificados que predominam no Brasil são para tratamento de disfunção erétil e para perda de peso. O objetivo deste trabalho foi comparar amostras de sibutramina de origens distintas a fim de detectar falsificações e agrupar amostras com propriedades semelhantes, através da quantificação por Cromatografia Líquida acoplada à espectrometria de massas (CL-EM); da identificação por espectroscopia de infravermelho (IV) e do perfil físico (determinação do peso médio e exames físicos dos pós e cápsulas). Fez-se previamente o perfil físico das amostras, no qual foi possível identificar grupos com características semelhantes, mas adquiridos por diferentes vias. No entanto, o perfil físico sozinho não é definitivo para determinar uma falsificação e muito menos determinar uma origem comum para a mesma. Na espectroscopia de IV observou-se que quase todas as amostras apresentaram sinais nas regiões características dos grupamentos químicos da sibutramina. Nesta análise, foi possível identificar quatro grupos distintos. Em relação ao método de CL-EM validado, ele se mostrou específico, linear, exato, preciso e robusto. Os resultados da análise por CL-EM revelaram que apenas uma das amostras ilegais da faixa de 90-110%. Duas amostras apresentaram teor acima e sete abaixo. Por fim, das doze amostras analisadas, apenas as duas originais e uma das ilegais apresentaram teor adequado. Assim, pudemos verificar que é muito fácil obter sibutramina de fontes ilegais e que estes medicamentos não têm qualidade. A divulgação destes resultados é a melhor maneira de desencorajar as pessoas a não utilizarem estas fontes para a obtenção de medicamentos.

Palavras-chaves: sibutramina, falsificação, perfil físico, CL-EM, espectroscopia de IV.

ABSTRACT

The illegal trade in drugs is a global problem that affects millions of people every year. Digital inclusion contributes to the rise of the sale of these drugs, making internet the main option in the world. In Brazil, the number of smuggled drugs seized by the Federal Police increased in recent years, mainly in the South and Southeast regions. Since most of them have entered Brazil via Paraguay. Counterfeit drugs that predominate in Brazil are those used to treat erectile dysfunction and to promote weight loss. The objective of this study was to compare samples of sibutramine with different origins in order to detect counterfeits and grouping samples with similar properties through quantification by liquid chromatography coupled to mass spectrometry (LC-MS) in previously developed and validated method; identification by infrared spectroscopy (IR) and physical profile (determination of average weight and physical examinations powders and capsules). In order to do so, 12 samples were examined, two original products acquired from local pharmacies and 10 from internet and street vendors. Based on visual examination at least three potential sources of capsules were identified, but acquired from different sources. However, the physical profile alone cannot be used to identify counterfeit drugs. Using infrared spectroscopy we found out that almost all samples showed signals that could be attributed to sibutramine functional groups. Based on IR spectra, four groups were identified, with six, three, two and one brand. Regarding the LC-MS method validated, it proved to be showed specific, linear, accurate, precise and robust. The results of LC-MS analysis revealed that only one of the illegally acquired samples were within the 90-110%. Two samples were above and the other seven were bellows those limits. Overall we found out that is very easy to buy sibutramine in the informal market and most of them are of poor quality and maybe the publication of these data coulbe the best way to discourage people to seek these sources.

Keywords: sibutramine, forgery, physical profile, LC-MS, IR spectroscopy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Blisters das amostras A a F.	39
Figura 2. Cápsulas de sibutramina autênticas e falsificadas.	40
Figura 3. Cápsulas irregulares das amostras C, D, E e J.	41
Figura 4. Pós das amostras de sibutramina. aPó das amostras após triturar; bPó das amostras antes de triturar.	42
Figura 5. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho.	55
Figura 6. Estrutura química da sibutramina.	56
Figura 7. Doação do hidrogênio do HCl para a amina terciária da sibutramina	56
Figura 8. Estrutura molecular da celulose microcristalina	58
Figura 9. Espectro de IV da celulose microcristalina.	59
Figura 10. Estrutura molecular da lactose monoidratada.	60
Figura 11. Espectro de IV da lactose monoidratada.	60
Figura 12. Estrutura molecular do estearato de magnésio.	61
Figura 13. Espectro de IV amostras de estearato de magnésio.	61
Figura 14. Espectro de IV do dióxido de silício.	62
Figura 15. Estrutura molecular do amido glicolato de sódio.	63
Figura 16. Espectro de IV do amido glicolato de sódio	63
Figura 17. Espectro de IV da sibutramina SQR.	65
Figura 18. Espectro de IV da amostra A.	65
Figura 19. Espectro de IV da amostra B.	66
Figura 20. Espectro de IV da amostra C.	66
Figura 21. Espectro de IV da amostra D.	66
Figura 22. Espectro de IV da amostra E.	67
Figura 23. Espectro de IV da amostra F.	67
Figura 24. Espectro de IV da amostra G.	67
Figura 25. Espectro de IV da amostra H.	68
Figura 26. Espectro de IV da amostra I.	68
Figura 27. Espectro de IV da amostra J.	68
Figura 28. Espectro de IV da amostra K.	69
Figura 29. Espectro de IV da amostra L.	69
Figura 30. Classificação dos testes, segundo sua finalidade.	79

Figura 31. Ensaio necessários para a validação do método analítico.	80
Figura 32. (I) Estrutura química da β -fenetilamina; (II) Estrutura química da sibutramina.....	81
Figura 33. Íon molecular da sibutramina	84
Figura 34. Cromatograma de sibutramina analisada em CL-EM.....	87
Figura 35. Curvas de calibração do teste de linearidade.	88
Figura 36. Cromatograma da sibutramina SQR preparada em condições normais (a) e após hidrólise ácida (b), alcalina (c), oxidação (d) e fotólise (e). 90	
Figura 37. Cromatogramas: (I) Padrão SQR de sibutramina; (II) Amostra A; (III) Amostra B e (IV) Amostra C.....	101
Figura 38. (I) Amostra D; (II) Amostra E; (III) Amostra F; (IV) Amostra G. (V) Amostra H; (VI) Amostra I; (VII) Amostra J; (VIII) Amostra K; (IX) Amostra L. 102	
Figura 39. Esquema geral do agrupamento por similaridade nos resultados das amostras.....	107

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Propriedades dos pós das 12 amostras de sibutramina.....	41
Tabela 2. Determinação do Peso Médio das cápsulas das 12 amostras de sibutramina.....	43
Tabela 3. Perfil físico das amostras de sibutramina.....	44
Tabela 4. Regiões características da estrutura química de sibutramina.....	64
Tabela 5. Corridas geradas no planejamento fatorial Plackett-Burman.....	86
Tabela 6. Resultados de precisão para a sibutramina.....	89
Tabela 7. Taxa de recuperação (%) de sibutramina.....	89
Tabela 8. Resultados do estudo de robustez.....	89
Tabela 9. Teor de sibutraminaa em amostras autênticas e falsificadas por CL-EM.....	91
Tabela 10. Agrupamento das amostras segundo resultados nos perfis físicos e na espectroscopia de IV.....	104

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	17
OBJETIVOS	23
CAPÍTULO 1 – PERFIL FÍSICO	27
1.1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	29
1.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	30
1.3 MATERIAL E MÉTODOS	34
1.3.1 Amostras.....	34
1.3.2 Blisters	35
1.3.3 Cápsulas.....	35
1.3.4 Pós.....	35
1.3.5 Determinação do Peso Médio.....	36
1.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
1.5 CONCLUSÕES	45
1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46
CAPÍTULO 2 – PERFIL DA SIBUTRAMINA POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO	51
2.1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	53
2.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	54
2.3 MATERIAIS E MÉTODOS	57
2.3.1 Amostras e e Padrão	57
2.3.2 Equipamento.....	57
2.3.3 Análise por espectroscopia de IV.....	57
2.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
2.5 CONCLUSÃO	71
2.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
CAPÍTULO 3 – PERFIL POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS	75
3.1 INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	77
3.2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	78
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	82
3.3.1 Produtos químicos e reagentes	82
3.3.2 Equipamento’	83
3.3.3 Software adicional.....	83
3.3.4 Preparo das soluções	83
3.3.5 Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas	84
3.3.6 Planejamento fatorial Plackett-Burman para o teste de robustez	84
3.4 VALIDAÇÃO	85
3.4.1 Linearidade	85
3.4.2 Precisão e Exatidão.....	85

3.4.3 Robustez.....	86
3.4.4 Especificidade.....	86
3.5 APLICAÇÃO DO MÉTODO VALIDADO EM AMOSTRAS AUTÊNTICAS E FALSIFICADAS	87
3.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	87
3.7 CONCLUSÃO	92
3.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	92
DISCUSSÃO GERAL	95
CONCLUSÕES	109
PERSPECTIVAS	113
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	117
ANEXOS	123

INTRODUÇÃO

A falsificação de medicamentos é um problema mundial que afeta milhões de pessoas todos os anos (WHO, 1999; WHO, 2011; AMES & SOUZA, 2012). Essas pessoas são iludidas por este comércio informal acreditando estar fazendo o tratamento correto, no entanto, não sabem a composição, nem a origem destes produtos (AMES & SOUZA, 2012).

Empresas e agências farmacêuticas desenvolvem constantemente medidas para proteção dos medicamentos e análise rápida e confiável dos produtos suspeitos. Várias técnicas, essencialmente baseadas em cromatografia e espectrometria, estão à disposição dos analistas para permitir a distinção entre produtos genuínos e falsificados. Entretanto, a determinação dos componentes e a utilização dos dados analíticos para fins forenses constitui ainda um desafio (DÉGARDINA, ROGGOA & MARGOT, 2014).

A luta para proteger a cadeia de abastecimento internacional de medicamentos é ajudada cada vez que incidentes com medicamentos falsificados são relatados, mantendo os consumidores alerta para os riscos, e conscientes da necessidade de incentivar seus governos a legislar e fazer cumprir os regulamentos sobre medicamentos (PARTNERSHIP, 2015).

Esse comércio representa um alto risco sanitário, pois a origem suspeita dos medicamentos resulta em produtos com qualidade duvidosa, cuja utilização pode resultar numa falha do tratamento e contribuir para aumentar a resistência, no caso de antibióticos, ou mesmo causar o óbito do paciente (AMES & SOUZA, 2012; GUPTA, SINGHAL & PANDEY, 2012). Tendo composição incerta, esses medicamentos podem não ter componentes ativos, ter componentes ativos insuficientes, usar outros fármacos no lugar dos ativos usuais ou, ainda, empregar componentes tóxicos e não medicinais, como por exemplo, tintas, ceras para assoalho, talco, giz. Porém, a composição também pode ser similar aos legítimos, quando os princípios ativos inautênticos são selecionados ou escolhidos com uma estrutura química semelhante ao original. De qualquer maneira, esses produtos falsificados podem acentuar efeitos adversos e interações medicamentosas e mascarar os sinais clínicos que permitiriam cuidados adequados, agravando condições de saúde e prolongando o tempo de tratamento, gerando sofrimento e gasto às pessoas

(EAASM, 2008; NEWTON et al., 2008; FERNANDEZ, GREEN & NEWTON, 2008; WHO, 2010).

A falsificação possui uma alta demanda e lucratividade, que é mantida pela corrupção, incapacidade de controle e aumento dos consumidores que recorrem a esses produtos (TALATI, PARIKH & AGRAWAL, 2011). Os fracos sistemas de regulamentação de medicamentos, os insuficientes controles sobre a produção, distribuição e importação (GAUDIANO et al., 2006), o alto custo de alguns medicamentos, a falta de legislação adequada e sanções penais fracas também contribuem com este comércio (CARVALHO, 2006; WHO, 2006; VIRELLA, 2008).

O fenômeno da falsificação de medicamentos é relativamente recente, sendo identificado como um problema emergente pela WHO em 1985 (GUPTA, SINGHAL & PANDEY, 2012). Desde então, a dimensão do problema cresceu, acreditava-se que em 2006 o comércio ilícito de medicamento representasse 10% do comércio global de medicamentos e que chegaria a US\$ 75 bilhões em 2010, aumentando 92% em relação a 2005 (WHO, 2006). Podem ser falsos até 40% dos medicamentos à venda em alguns países (PARTNERSHIP, 2015).

A *internet* representa uma grande brecha na qual os medicamentos falsificados podem chegar aos consumidores. Muitos dos *sites* ilegais vendem medicamentos prescritos, ou versões falsificadas inseguras, diretamente para o público, sem uma prescrição válida ou consulta com um profissional de saúde. Este é o aspecto mais perigoso do comércio *online* de medicamentos, uma vez que afasta os pacientes das consultas médicas e a qualidade do produto é incerta (EAASM, 2008). Segundo a WHO (2012), 50% dos medicamentos comprados por esta via são falsos e de *sites* ilegais. Devido ao anonimato e à natureza pouco regulamentada da *internet*, há um baixo risco dos responsáveis serem pegos e suas operações serem desligadas.

De um modo geral, os falsificadores são atraídos por dois tipos de medicamentos: aqueles que são utilizados em grande número e os que têm um elevado valor monetário (EAASM, 2008). Nos países em desenvolvimento, os medicamentos que dominam o mercado da falsificação são os com preços elevados e necessários para a sobrevivência, como os citostáticos, antibióticos

e anti-hipertensivos. Já em países desenvolvidos, os que predominam estão relacionados com estilos de vida, como narcóticos, tratamentos de impotência sexual, perda de peso e perda de cabelo (EAASM, 2008; VIRELLA, 2008).

Em 2005 predominavam no comércio ilegal brasileiro os medicamentos psicotrópicos, opióides e estimulantes. Já em 2009 eram os emagrecedores, para tratamento de câncer e, principalmente, para disfunção erétil (FARIA, 2009). A operação “Seis Fronteiras” apreendeu mais de 17 mil comprimidos de medicamentos irregulares, incluindo a sibutramina (BRASIL, 2009), que é um medicamento tarja preta, utilizado no tratamento da obesidade e sujeito a notificação de receita "B2" (receita azul) (BRASIL, 1998).

A globalização dos mercados financeiros tem facilitado o contrabando e importações e exportações ilegais (REYNOLDS & MCKEE, 2010). O número de medicamentos ilegais apreendidos no Brasil pela polícia federal aumentou nos últimos anos. Sendo que as regiões Sul e Sudeste são as mais afetadas pelo comércio ilícito e as que tiveram o maior número de apreensões. Grande parte desses medicamentos falsos foi apreendida junto com medicamentos estrangeiros contrabandeados, principalmente de origem paraguaia, reforçando a hipótese de que essas mercadorias são produzidas no exterior e adentram no país pelos portos e fronteiras (AMES & SOUZA, 2012).

O controle de tais práticas de pirataria é indispensável e, portanto, governos e instituições reconhecidas internacionalmente têm tomado medidas para limitar sua propagação e aboli-la. As indústrias farmacêuticas são o principal alvo econômico, perdendo mercado e reduzindo lucro, mas, por isso, iniciaram a prática contra falsificações. Tal prática é altamente recomendada nas áreas da saúde, onde muito dano é causado aos pacientes. O “anti-falsificação” parece ser o novo horizonte da ciência e da tecnologia, cujos frutos serão para o bem estar das pessoas. Técnicas e instrumentos analíticos tem se mostrado relevantes na detecção, identificação e diferenciação dos produtos falsificados, sendo importante o desenvolvimento de novos protocolos e métodos para os instrumentos atuais (TALATI, PARIKH & AGRAWAL, 2011).

Há poucos artigos disponíveis sobre desenvolvimento e validação de métodos para detecção, identificação, quantificação e diferenciação de

medicamentos originais e falsificados. Por exemplo, pesquisando as palavras “*medicine counterfeit*”, “*drugs counterfeit*”, “*pharmaceuticals counterfeit*”, “*counterfeit medications*” e “*fake drugs*” na base de dado *PubMed* foram encontrados aproximadamente 1.600 artigos. Destes, foram selecionados artigos que empregavam pelo menos um dos seguintes métodos: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (CLUE), Ressonância Magnética Nuclear (RMN) ou Espectroscopia de Infravermelho (IV). A maior parte dos trabalhos são revisões e apenas 38 artigos usavam algum dos métodos acima. O método mais empregado foi CLAE, que apareceu em 16 artigos. Dos 38, 27 artigos são dos últimos 5 anos e estudaram, principalmente, os medicamentos para impotência sexual (14 artigos) e malária (10 artigos). Nesta linha de pesquisa não foi encontrado trabalhos com medicamentos emagrecedores.

A elevada quantidade de medicamentos falsificados disponíveis e o baixo número de artigos publicadas na área impõe a necessidade de novas pesquisas para detectar esses produtos farmacêuticos falsificados e distingui-los dos verdadeiros.

OBJETIVOS

- Desenvolver e validar metodologia por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CL-EM) para a identificação e quantificação de sibutramina na presença dos excipientes e principais produtos de degradação; e, aplicar o método desenvolvido nas amostras de sibutramina de diferentes origens;

- Analisar em espectrômetro de IV as amostras obtidas e identificar as regiões características da estrutura química de sibutramina;

- Determinar e comparar as características físicas das amostras;

- Detectar falsificações e agrupar as amostras com propriedades semelhantes, a partir da análise em espectrômetro de IV, em CL-EM e dos perfis físicos das amostras.

1.1 Introdução e Objetivos

A WHO (1999) definiu medicamentos falsificados como “*produtos farmacêuticos que foram rotulados de forma errônea – deliberada e fraudulentamente – no que diz respeito à identidade e/ou à origem*”.

Considerada mundialmente como um problema de saúde pública, a falsificação de medicamentos possui como um de seus principais meios de comércio a *internet* (WHO, 1999), pois não exige receita, é mais rápido, confidencial e conveniente (DÉGARDINA, ROGGOA & MARGOT, 2014). Em 2013, foram fechados mais de 13.700 *sites* ilícitos no mundo e apreendidos 9,8 milhões de medicamentos potencialmente perigosos no valor de US\$ 41 milhões (INTERPOL, 2014).

Os principais alvos econômicos são os pacientes e a indústria farmacêutica que experimenta uma redução no lucro, uma imagem manchada pela divulgação das falsificações e o ônus constante de tentar proteger seus produtos contra os impostores (JACK, 2007).

Assim como a falsificação de medicamentos, a obesidade também é um problema de saúde pública (SILVA, 2011), que necessita de uma boa adesão à terapia para ser combatida. Essa adesão depende de vários fatores, que podem ser influenciados negativamente pela mudança constante na apresentação dos medicamentos (cor, odor, gosto, tamanho e embalagem), falha ou resistência do medicamento, no caso de antibióticos, e ausência ou melhora dos sintomas (REINERS et al., 2008).

Os medicamentos falsificados colaboram para a não-adesão a terapêutica, pois, como são de origem duvidosa e qualidade incerta, podem provocar efeitos adversos e mascarar sinais clínicos, fazendo com que as pessoas abandonem seu uso, agravando suas condições de saúde e prolongando, posteriormente, o tempo de tratamento ou mesmo levando a morte (EAASM, 2008; NEWTON et al., 2008; FERNANDEZ, GREEN & NEWTON, 2008; WHO, 2010; GUPTA, SINGHAL & PANDEY, 2012).

A sibutramina é indicada para o tratamento da obesidade e necessita de notificação de receita "B2" (receita azul), acompanhada de Termo de

Responsabilidade do Prescritor, para ser vendida (BRASIL, 1998; BRASIL, 2011a; ANVISA, 2015). No entanto, ela é facilmente comprada pela *internet* sem a necessidade de receita.

Técnicas e instrumentos analíticos têm se mostrado relevantes na detecção, identificação e diferenciação entre produtos autênticos e falsificados, mas sempre é importante o desenvolvimento de novos protocolos e métodos (TALATI, PARIKH & AGRAWAL, 2011).

Nesse sentido, o primeiro capítulo desta dissertação tem como objetivo apresentar o perfil físico de amostras autênticas e falsificadas, através da análise dos blisters, das cápsulas, dos pós e da determinação do peso médio das cápsulas dos medicamentos, visando identificar semelhanças e diferenças entre elas e verificar algum indício inicial de falsificação.

1.2 Revisão Bibliográfica

A adesão ao tratamento é um tema bastante importante, principalmente quando se abordam doenças crônicas (JÚNIOR, GRECOA & CARNEIRO, 2001). Esta é definida como o grau de consentimento entre o comportamento de uma pessoa em relação às orientações do médico ou de outro profissional de saúde (DEWULF et al., 2006).

Uma fraca adesão às terapias pode comprometer negativamente a evolução clínica do paciente e a sua qualidade de vida, constituindo-se um problema crítico na saúde da população, que pode trazer consequências pessoais, sociais e econômicas (WHO, 2003; DEWULF et al., 2006). Entre os fatores determinantes da não-adesão relacionados ao tratamento está a apresentação dos medicamentos (cor, odor, gosto, tamanho e embalagem) (REINERS et al., 2008).

A falsificação de medicamentos se tornou uma indústria estruturada com fabricantes, atacadistas, distribuidores e vendedores locais (ROUDAUT, 2011). Essa prática não exige muito espaço e muitas vezes podem ser realizadas em pequenas instalações industriais, oficinas, casas regulares, quintais, garagens

ou até mesmo pequenas vans, geralmente por trabalhadores não qualificados (DÉGARDINA, ROGGOA & MARGOT, 2014).

Estudos sugerem que 32% das falsificações não contêm componentes ativos e, provavelmente causem risco à saúde (WHO, 2010). Mesmo que os falsificadores usem os ingredientes certos, seus padrões de qualidade ainda serão muito menores. Os custos de produção são insignificantes em relação à dos genuínos, sem dispêndio em pesquisa e desenvolvimento ou licenciamento (REYNOLDS & MCKEE, 2010).

Além disso, os falsificadores não devem seguir procedimentos operacionais padrão de produção, controle de qualidade e segurança na fabricação dos medicamentos, e nem devem estar preocupados com a higiene do local ou a apresentação dos mesmos. É um comércio que visa apenas o lucro (CARVALHO, 2006; WHO, 2006; VIRELLA, 2008).

A obesidade é uma doença integrante do grupo de doenças crônicas não transmissíveis (PINHEIRO, FREITAS & CORSO, 2004), que alcançou proporções epidêmicas a nível mundial. Projeções da WHO indicavam que neste ano, 2015, pelo menos um terço da população mundial estaria com sobrepeso, e cerca de 10% seria obesa (SILVA, 2011). Segundo informações divulgadas em janeiro pela WHO (2015), a maioria da população do mundo vive em países onde o sobrepeso e a obesidade matam mais pessoas do que abaixo do peso, e 39% dos adultos com 18 anos ou mais estavam acima do peso e 13% eram obesos em 2014, 42 milhões de crianças com menos de 5 anos estavam acima do peso ou eram obesos em 2013. Os medicamentos para tratamento da obesidade estão entre os medicamentos mais falsificados nos países desenvolvidos (EAASM, 2008; VIRELLA, 2008).

No Brasil, a região Sul está entre as duas regiões mais afetadas pelo comércio ilegal de medicamentos e com o maior número de apreensões por este motivo (AMES & SOUZA, 2012). Bem como, a região Sul apresenta as maiores proporções de sobrepeso e obesidade no Brasil, seguida dos estados de São Paulo e Rio de Janeiro (SILVA, 2011). Portanto, sendo a região com maior número de pessoas acima do peso e tendo uma das maiores taxas de falsificação de medicamentos do Brasil, a região Sul é propensa a ter muitos

medicamentos para tratamento da obesidade sendo negociados no comércio ilegal.

A sibutramina é um medicamento prescrito para o tratamento da obesidade, que tanto o metabólito amino primário (M_2) como o amino secundário (M_1) são farmacologicamente ativos e induzem os processos naturais levando a aumento da saciedade e da termogênese por inibição da receptação da serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) e da noradrenalina (norepinefrina) (McNEELY & GOA, 1998).

Em um estudo foi observado que pacientes fazendo uso de sibutramina apresentaram aumento de 16% no risco de infarto do miocárdio não fatal, acidente vascular cerebral não fatal, parada cardíaca ou morte cardiovascular comparados com os pacientes que não usaram o medicamento (BRASIL, 2011a). O uso da sibutramina no Brasil está em período de monitoramento do seu perfil de segurança, só podendo ser vendida quando tiver notificação de receita "B2" e Termo de Responsabilidade do Prescritor (BRASIL, 1998; ANVISA, 2015).

É vedada a prescrição, dispensação e o aviamento de medicamentos ou fórmulas medicamentosas que contenham a substância sibutramina, seus sais e isômeros, bem como intermediários acima da dose diária recomendada de 15 mg/dia (BRASIL, 2011a).

A administração é feita por via oral, pela manhã, com ou sem alimentação. Vendida na forma farmacêutica cápsula, nas doses de 10 e 15 mg, é um pó cristalino, branco a branco leitoso, cujos laboratórios Aché, Torrent, Teuto, Biosintética, EMS, Germed, Nova Química e Legrand Pharma possuem registro para sua comercialização no Brasil (ANVISA, 2015). No entanto, nem todos estão disponíveis nas farmácias, pois alguns laboratórios não a produzem mais.

As preocupações com potenciais efeitos hipertensores da sibutramina são refletidas nas dosagens e nas recomendações de administração fornecidas pelos fabricantes (McNEELY & GOA, 1998).

No entanto, ela é facilmente comprada pela *internet* ou em mercados ilegais sem a necessidade de receita. Em 2009, blisters contendo sibutramina falsificada foram apreendidos pela Polícia Federal (BRASIL, 2009a). Já em 2014, foram apreendidas pela Polícia 4 mil cápsulas de sibutramina (G1, 2014a) em janeiro e 9.760 cápsulas do mesmo medicamento em setembro (G1, 2014c). E, no dia 11.03.2015 um homem foi preso na Bahia quando transportava mais de 37 mil unidades de medicamentos proibidos, incluindo a sibutramina (G1, 2015). Essas são apenas algumas das muitas notícias de apreensões de medicamentos ilegais no país.

Os produtos suspeitos devem passar por uma análise rápida e confiável, a fim de distingui-las entre produtos originais e falsificados (DÉGARDINA, ROGGOA & MARGOT, 2014). Mesmo sendo mundialmente comercializada e já ter tido casos de apreensões de seu medicamento falsificado, não existe metodologia para análise de sibutramina na forma farmacêutica cápsulas em códigos oficiais (BP, 2007; F. Bras. 2010; Ph. Eur., 2008; USP, 2012).

Um perfil pode ser definido como um conjunto de características específicas selecionadas para proporcionar informações sobre determinada produção, por exemplo, clandestina. Estudos com obtenção de perfis químicos e/ou físicos de amostras de drogas e de medicamentos ilícitos visam provar materialmente a existência de um crime ou subsidiar com informações precisas os serviços de inteligência estratégia e operacional (ORTIZ, 2013).

Por mais que os dados de controle físico não sejam empregados de modo absoluto para se atestar uma falsificação, eles são o primeiro contato com as amostras, que até então são consideradas falsas.

O perfil físico, estudo desta dissertação, envolveu a análise das cápsulas, dos pós, dos blisters e a determinação do peso médio de amostras autênticas e falsificadas. Não envolveu o exame das caixas, pois apenas as amostras autênticas vieram nelas.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira V ed. (2010) cápsula dura é uma forma farmacêutica sólida, normalmente formada de gelatina e tipicamente preenchida com um ou mais princípios ativos e excipientes na forma sólida.

Constituída de duas seções cilíndricas pré-fabricadas, denominadas corpo e tampa, que se encaixam e cujas extremidades são arredondadas.

Outra forma farmacêutica sólida é o pó, que pode preencher as cápsulas duras, e contém um ou mais princípios ativos secos e com tamanho de partícula reduzido, com ou sem excipientes (F. Bras., 2010).

A determinação de peso em dose unitária para cápsulas duras permite verificar se as unidades de um mesmo lote apresentam uniformidade de peso (F. Bras., 2010).

Já blisters são recipientes moldados em forma de bandeja com cavidades dentro das quais as formas farmacêuticas são armazenadas, normalmente com uma cobertura de material laminado selada à parte moldada, que deve ser aberta ou rompida para acessar o conteúdo. O grau de transparência do blister pode ser âmbar, opaco, transparente ou translúcido (BRASIL, 2011b).

1.3 Material e Métodos

1.3.1 Amostras

Foram adquiridas 2 amostras de sibutramina no comércio formal, que eram as únicas disponíveis no período de compra, e 10 amostras no comércio informal, através da *internet*, ambulantes ou entregadores.

A dosagem não foi utilizada como um critério de exclusão da amostra no estudo. No entanto, considerou-se apenas como amostra aquelas que eram diferentes das anteriormente adquiridas ou sem identificação, mas sendo vendida como sibutramina. Neste caso houve amostras que chegaram pelo correio e tiveram que ser ignoradas.

Nomeou-se as amostras com letras de A à L. As amostras autênticas foram chamadas de A e B e as consideradas, a princípio, falsificadas de C à L.

1.3.2 Blisters

Realizou-se uma inspeção visual dos blisters a fim de avaliar a qualidade e identificar impressões, incluindo fontes, dizeres e símbolos, com informações de teor, lote, data de fabricação, validade e excipientes.

O exame macroscópico dos blisters foi prejudicado porque algumas amostras não vieram com embalagens. Além disso, não foram realizadas as análises de inspeção visual das caixas e bulas dos medicamentos, pois apenas as amostras autênticas apresentavam caixas e bulas.

1.3.3 Cápsulas

Fez-se uma avaliação externa da forma farmacêutica, referente aos aspectos de cor (tampa e corpo da cápsula), tamanho, integridade, limpeza, força para abrir/resistência da tampa e se a cápsula ficou inalterada após a abertura.

1.3.4 Pós

Os pós foram avaliados e classificados de acordo com algumas características:

- Aparência: cristalino, granulado, pó seco ou pó úmido.
- Aspecto: grosso ou fino, dispersivo.
- Coloração: além da cor propriamente dita, foi determinada se é homogênea ou heterogênea.

Para a classificação dos pós, granulado consiste de agregados sólidos e secos de volumes uniformes de partículas de pó resistentes ao manuseio (F. Bras., 2010).

1.3.5 Determinação do Peso Médio

Para a determinação de peso médio de cápsulas duras é preconizado pesar, individualmente, 20 unidades. Porém, devido ao número reduzido de cápsulas disponíveis por amostras, adaptou-se o teste de determinação de peso da Farmacopeia Brasileira 5ª ed., vol. 1 (2010), conforme a quantidade de cápsulas conseguidas por amostra.

Foram pesadas, individualmente, as cápsulas cheias e depois vazias. A quantidade de unidades pesadas variou conforme a disponibilidade por amostra. Posteriormente, calculou-se o peso do conteúdo de cada cápsula pela diferença de peso entre a cápsula cheia e a vazia. Após, determinou-se o peso médio e os limites de variação superior e inferior permitidos.

Os limites de variação calculados dependeram do peso médio das cápsulas duras analisadas. Para cápsulas com peso médio menor e maior ou igual a 300 mg são admitidos limites de variação de, respectivamente, $\pm 10,0\%$ e $\pm 7,5\%$. Não podendo ser tolerado mais que duas unidades do total de 20, fora dos limites especificados, em relação ao peso médio do conteúdo, porém, nenhuma poderá estar acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas (F. Bras., 2010).

1.4 Resultados e Discussão

Não houve obstáculos à compra de medicamentos sujeitos a prescrição médica *online*. O contato, geralmente, foi feito por *e-mail* diretamente com o vendedor, que não fez nenhum questionamento sobre o motivo da compra e também não forneceu nenhuma orientação sobre o medicamento.

Perguntou-se aos diferentes vendedores a respeito da origem dos medicamentos, que informaram ser um importado da Espanha e os demais trazidos do Paraguai.

As respostas aos *e-mails* eram rápidas, o pagamento era feito por depósito bancário e em torno de 15 dias o produto era entregue. Dos medicamentos solicitados, apenas um não foi entregue, mesmo estando pago.

A pendência na entrega não teve motivo e os *e-mails* desse vendedor não tiveram retorno, mas a não-entrega do medicamento coincidiu com a prisão de um grupo que vendia medicamentos controlados para emagrecer pela *internet* (G1, 2014b).

Os produtos comprados no mercado ilegal (*internet*, ambulantes ou entregadores) foram entregues em envelopes, enrolados em plásticos-bolha ou em folhas de papel, de forma insegura e improvisada. Nenhuma das amostras falsificadas veio em caixas e com bulas ou com algum folheto informativo. Portanto, as pessoas que adquiriram esses medicamentos não tinham nenhuma orientação, por exemplo, sobre efeitos adversos, interações medicamentosas, contraindicações e posologia.

A maneira que os produtos estavam empacotados não era o único indício de que não se tratavam de produtos genuínos e lícitos. Mesmo sem equipamentos sofisticados, somente com um perfil físico dos produtos, pode-se identificar vários aspectos que indicavam se tratar de um produto suspeito e potencialmente perigoso.

Analisando as amostras pôde-se dizer que os falsificadores e revendedores não aparentaram estar preocupados com tornar a aparência dos medicamentos mais agradáveis ou similares a dos originais.

O rótulo é a identificação do produto, aplicada diretamente sobre a embalagem, externa ou interna, não podendo ser removido ou alterado durante o uso do produto, do transporte ou do seu armazenamento (F. Bras., 2010).

Segundo a Resolução nº 71/09 (BRASIL 2009b), os blisters dos medicamentos com venda sob prescrição médica devem ter a frase, em caixa alta, "VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA" e seu Art. 8º determina que devam conter as seguintes informações: nome comercial; denominação genérica do princípio ativo, em letras minúsculas, utilizando a Denominação Comum Brasileira (DCB); concentração do princípio ativo, por unidade de medida; via de administração; nome do titular do registro ou sua logomarca desde que a mesma contenha o nome da empresa; e, o telefone do Serviço de

Atendimento ao Consumidor (SAC), da empresa titular do registro ou de sua responsabilidade.

Desconsiderando as amostras autênticas, das 10 amostras falsificadas adquiridas, apenas 4 estavam em blisters. As outras 6 amostras foram entregues na forma de cápsulas soltas sem identificação.

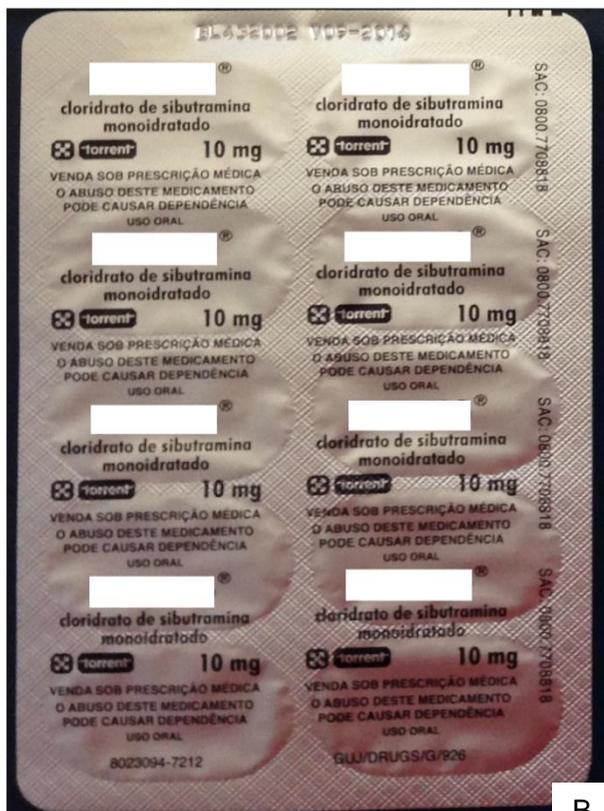
Analisando os blisters (Figura 1), todos eram de boa qualidade, possuíam tamanho de fonte adequado, com a descrição da concentração e denominação genérica do princípio ativo, mas apenas as amostras autênticas escreveram o nome em letras minúsculas.

A amostra C não tinha descrito a via de administração e a amostra E não tinha lote, nem data de fabricação e validade. As amostras D, E e F foram as únicas que citaram os excipientes e o uso do medicamento, mas não constavam nome do titular do registro ou sua logomarca com o nome da empresa, nem a frase "VENDA SOB PRESCRIÇÃO MÉDICA".

Em relação aos blisters, o da amostra E foi nitidamente o que tinha menos informações, não apresentando nem a data de validade do medicamento. Entretanto, as embalagens de todas as amostras falsificadas foram consideradas irregulares.



C



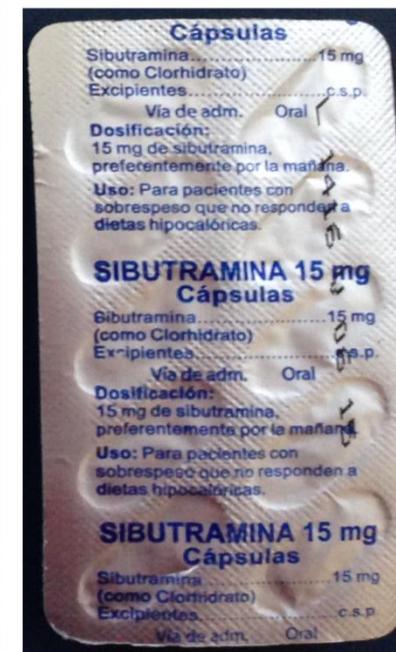
A



D



E



F

Figura 1. Blisters das amostras A a F.

As cápsulas passaram por uma inspeção visual quando fechadas e após abertas, avaliando-se a cor (tampa e corpo da cápsula), o tamanho, a integridade, a limpeza, o nível de rigidez ou flexibilidade da tampa para abrir e se a cápsula ficava inalterada ou se rasgava/quebrava em pedaços durante o processo de abertura.

Todas as cápsulas estavam limpas e íntegras antes de abri-las, exceto uma cápsula da amostra C que apresentou uma irregularidade. O número correspondente ao tamanho da cápsula foi diretamente proporcional à dosagem, portanto, as cápsulas nº 3 e 4 eram, respectivamente, para doses de 15 e 10 mg.

Para 12 amostras foram encontrados 7 cores diferentes de cápsulas (Figura 2). As amostras A e B (autênticas), D a F eram de cores distintas. As amostras G e L eram cápsulas transparentes na cor azul claro. Já as amostras C, H a K eram da cor bordô, representando metade das amostras falsificadas analisadas.



Figura 2. Cápsulas de sibutramina autênticas e falsificadas.

Se o paciente compra o medicamento sempre do mesmo laboratório no comércio formal, ele não terá desconfiarças sobre o produto. No entanto, adquirindo-os por outras vias, o medicamento nem sempre apresentará as mesmas características, como, por exemplo, a cor das cápsulas, o que dificulta a adesão ao tratamento e causa dúvidas em relação à confiança, qualidade e segurança daquele medicamento.

Após a análise externa das cápsulas, elas foram abertas. De um total de 85 cápsulas analisadas, 6 apresentaram alguma irregularidade (Figura 3).

Das 10 cápsulas que pertenciam à amostra C, uma estava furada na parte lateral da tampa, antes de ser aberta, e outras 2 se rasgaram durante o

processo de abertura. Uma tampa da cápsula da amostra D e outra da amostra J foram quebradas ao tentar abri-las. A amostra E tinha uma cápsula um pouco amassada. As demais cápsulas estavam em bom estado.



Figura 3. Cápsulas irregulares das amostras C, D, E e J.

Todas as irregularidades apresentadas foram na parte da tampa. As cápsulas das amostras C e J aparentaram ser do mesmo fabricante, pois além da cor ser igual, elas eram feitas com um material mais duro do que as outras e, provavelmente, este seja o motivo de terem quebrado mais facilmente.

As características encontradas nos pós das amostras podem ser encontradas na Tabela 1 e confirmadas na Figura 4.

Tabela 1. Propriedades dos pós das 12 amostras de sibutramina.

Amostras	Propriedades		
	Aparência	Aspecto	Coloração
A	Cristalino	Pó fino e dispersivo	Branca e homogênea
B	Cristalino	Pó fino e dispersivo	Branca e homogênea
C	Pó úmido	Pó grosso	Branca e homogênea
D	Pó úmido	Pó grosso	Branca e homogênea
E	Pó úmido	Pó grosso	Branca e homogênea
F	Cristalino	Pó fino e dispersivo	Branca e homogênea
G	Granulado	Partículas redondas que não aderem aos demais pós	Branca e homogênea
H	Cristalino	Pó fino e dispersivo	Branca e homogênea
I	Pó úmido	Pó grosso	Branca e homogênea
J	Pó úmido	Pó grosso	Branca e homogênea
K	Cristalino	Pó fino e dispersivo	Branca e homogênea
L	Granulado	Partículas redondas que não aderem aos demais pós	Branca e homogênea



Figura 4. Pós das amostras de sibutramina. ^aPó das amostras após triturar; ^bPó das amostras antes de triturar.

Comparando os pós das amostras foi possível verificar divergências entre eles e agrupá-los em três grupos. Sendo que a única semelhança entre todos os pós foi a cor, branca e homogênea.

Pó fino, dispersivo e cristalino eram características das amostras A, B, F, H e K. Já as amostras C, D, E, I e J possuíam aspecto de pós úmidos e grossos. E as amostras G e L se distinguiram das demais por possuir o pó na forma de grânulos arredondados, que não se aderiam à outros pós e grânulos.

Determinou-se o peso médio, desvio padrão relativo (DPR) e os limites de variação das cápsulas de cada amostra (Tabela 2). A quantidade analisada variou conforme a disponibilidade. A Farmacopeia Brasileira 5ª ed. (2010) preconiza que para cápsulas com peso médio menor que 300 mg os limites de variações sejam de $\pm 10,0\%$ e para peso médio igual ou superior a 300 mg sejam $\pm 7,5\%$. Todas as amostras pesaram menos que 300 mg, exceto a amostra F que teve peso médio igual a 369,5 mg. A variação de peso médio entre as amostras foi de 149,7 a 369,5 mg.

Tabela 2. Determinação do Peso Médio das cápsulas das 12 amostras de sibutramina.

Amostra	Peso médio (mg)	DPR (%)	Variação entre cápsulas (mg)	Limites de Variação		Quantidade de cápsulas analisadas
				Inferior (mg)	Superior (mg)	
A	241,6	0,9	238,6 a 245,8	217,5	265,8	10
B	209,3	3,2	197,8 a 220,9	188,4	230,3	10
C	233,3	4,4	215,8 a 247,9	210,0	256,6	10
D	180,6	9,4	153,4 a 218,2	162,5	198,6	10
E	187,7	9,3	160,5 a 212,9	168,9	206,5	10
F	369,5	3,1	343,9 a 381,9	341,7	397,2	10
G	149,7	7,5	136,9 a 157,8	134,8	164,7	3
H	254,8	10,2	223,1 a 281,0	229,3	280,2	6
I	280,6	0,3	279,4 a 281,4	252,6	308,7	4
J	284,6	3,1	273,4 a 289,3	256,1	313,0	6
K	268,5	3,1	260,8 a 270,0	241,6	295,3	4
L	160,8	2,5	157,9 a 163,7	144,7	176,9	2

Todas as amostras tinham limites de variação de $\pm 10,0\%$, exceto a amostra F, que era de $\pm 7,5\%$.

No máximo duas unidades de um total de 20 podem estar fora dos limites de variação (F. Bras., 2010). Para nenhuma das amostras foi pesadas 20 cápsulas, porém, as amostras D, E e H apresentaram unidades fora dos limites superior e inferior.

Foram pesadas 10 unidades da amostra D e da amostra E. Ambas as amostras tiveram, no mínimo, 2 cápsulas fora dos limites. A amostra D e H tiveram, cada uma, uma cápsula fora do limite superior e outra fora do limite inferior, enquanto a amostra E teve duas unidades acima do limite superior e uma abaixo do limite inferior.

Não se pode atestar uma falsificação nem a origem do medicamento apenas com o perfil físico. Porém, com intuito de complementar os resultados das análises por CL-EM e espectrometria de IV que serão discutidos nos próximos capítulos, agruparam-se as amostras (Tabela 3) conforme as características encontradas no perfil físico (dosagens, propriedades dos pós, cor das cápsulas e determinação do peso médio).

Tabela 3. Perfil físico das amostras de sibutramina.

Características	Especificações	Amostras
Dosagem	10 mg	A, B, G e L
	15 mg	C, D, E, F, H, I, J e K
Propriedades dos pós	Pó fino, dispersivo e cristalino	A, B, F, H e K
	Pó úmido e grosso	C, D, E, I e J
	Pó na forma de grânulos arredondados, que não se aderiam à outros pós e grânulos.	G e L
Cor das cápsulas	Tampa: azul escuro; Corpo: amarelo	A
	Tampa e Corpo: laranja	B
	Tampa e Corpo: bordô	C, H, I, J e K
	Tampa: azul claro; Corpo: amarelo	D
	Tampa: azul claro; Corpo: branco	E
	Tampa: verde; Corpo: branco	F
	Tampa e Corpo: azul/transparente	G e L
Determinação do peso médio	360 mg a 380 mg	F
	280 mg a 300 mg	I e J
	250 mg a 270 mg	H e K
	230 mg a 250 mg	A e C
	200 mg a 220 mg	B
	170 mg a 190 mg	D e E
	140 mg a 160 mg	G e L

As amostras G e L apresentaram resultados semelhantes em todas as análises para determinação do perfil físico, portanto, possuem o mesmo perfil

físico. O mesmo ocorreu com as amostras H e K que apresentaram perfis físicos iguais, e I e J. Já as amostras D e E divergiram apenas em relação à cor de suas cápsulas. E as outras amostras possuíam mais do que uma característica diferente das demais, sendo que a amostra F foi a que apresentou o perfil físico mais distinto, provavelmente, porque seja a única amostra importada da Espanha (informação dada pelo vendedor). Nenhuma das amostras sob investigação de serem falsificadas foi semelhante às autênticas (A e B).

A partir disso, sugere-se que se trata de 6 amostras com 3 origens diferentes, ou seja, 2 amostras para cada origem (G e L; H e K; e I e J), mas que possuem diferentes distribuidores e vias de comércio atuando no Brasil.

Portanto, das 10 amostras falsificadas, somente 7 devem ser de origens realmente diferentes, mais as 2 amostras autênticas. Entretanto, apenas o perfil físico não pode afirmar isso, sendo necessários mais métodos para essa investigação.

1.5 Conclusões

Os dados de perfil físico não são empregados de modo absoluto para se atestar uma falsificação. Todavia, é uma análise rápida, praticamente sem custo e fácil de fazer, que pode identificar vários aspectos sugerindo que se trata de um produto suspeito e potencialmente perigoso.

Alguns dos indícios de que as amostras eram falsificadas foram: os medicamentos não possuíam caixa, bula e foram entregues empacotados de forma descuidada; os blisters não tinham todas as informações exigidas e no blisters da amostra E faltou a data de validade do produto, que é uma falta grave, um sério risco a saúde e um forte indício de que o medicamento era de fonte, no mínimo, duvidosa; e as cápsulas dos medicamentos falsificados apresentaram 7 combinações de cores diferentes. Essa discrepância de cores pode contribuir negativamente para a adesão ao tratamento, pois não adquirindo no comércio legal, os medicamentos são comprados conforme a

disponibilidade dos falsificadores e, assim, nem sempre se consegue o mesmo, afetando a continuidade da terapia.

A partir das dosagens, propriedades dos pós, cor das cápsulas e determinação do peso médio foi traçado o perfil físico que indicou ter 7 origens diferentes das amostras falsificadas. Sendo que 3 falsificadores teriam vendido, cada um, 2 amostras por meios distintos. Apesar desses indícios, o perfil físico como uma técnica isolada não é comumente empregado, necessitando de outros métodos de confirmação, que serão apresentados nos próximos capítulos.

1.6 Referências Bibliográficas

AMES, J; SOUZA, DZ. Falsificação de medicamentos no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, vol. 46, nº 1, pág. 154-159, 2012.

ANVISA, Ministério da Saúde. Bulário eletrônico. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmResultado.asp>. Acesso em: 05.04.2015.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Operação apreende medicamentos na fronteira com o Paraguai. Brasília, 2 de abril de 2009a. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/020409_3.htm>. Acesso em: 08.06.2013.

BRASIL, Secretário de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Portaria nº 344, de 13 de maio de 1998. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Disponível em: <http://www.saude.se.gov.br/userfiles/Portaria_344_98-.pdf>. Acesso em: 22.06.2013.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 71, de 22 de dezembro de 2009b. Estabelece regras para a rotulagem de medicamentos. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2009/res0071_22_12_2009.html>. Acesso em: 06.04.2015.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 52, de 06 de outubro de 2011a. Dispõe sobre a proibição do uso das substâncias anfepramona, femproporex e mazindol, seus sais e isômeros, bem como intermediários e medidas de controle da prescrição e dispensação de medicamentos que contenham a substância sibutramina, seus sais e isômeros, bem como intermediários e dá outras providências. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/dd91710048acfdab5b2b7e2d0c98834/RDC_52_2011_10_de_outubro_de_2011.pdf?MOD=AJPERES>.

Acesso em: 06.04.2015.

BRASIL. Vocabulário Controlado de Formas Farmacêuticas, Vias de Administração e Embalagens de Medicamentos. 1ª ed., Brasília: Anvisa, 2011b.

BP 2007. *British Pharmacopoeia*. Pharmacopoeia Commission British. London: The Stationery Office, 2007.

CARVALHO, AC. O impacto negativo da pirataria no cenário mercadológico e as dificuldades no combate a falsificação. *Revista do IBRAC*, Rio de Janeiro, vol. 12, nº 3, pág. 47-84, 2006.

DÉGARDINA, K; ROGGOA, Y & MARGOT, P. Understanding and fighting the medicine counterfeit market. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Inglaterra, vol. 87, pág. 167-175, 2014.

DEWULF, NLS et al. Adesão ao tratamento medicamentoso em pacientes com doenças gastrointestinais crônicas acompanhados no ambulatório de um hospital universitário. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, São Paulo, vol. 42, nº 4, pág. 575-584, 2006.

European Alliance for Access to Safe Medicines (EAASM). The Counterfeiting Superhighway. Medicom Group Ltd., Hampton Court, UK, 2008. Disponível em: <http://v35.pixelcms.com/ams/assets/312296678531/455_EAASM_counterfeitinq%20report_020608.pdf>. Acesso em: 01.04.15.

F. Bras. 2010. *Farmacopeia Brasileira*. 5 ed., vol. 1, Brasília: Anvisa, 2010.

FERNANDEZ, FM; GREEN, MD & NEWTON, PN. Prevalence and detection of counterfeit pharmaceuticals: a mini review. *Industrial & engineering chemistry research*, Estados Unidos, vol. 47, pág. 585-590, 2008.

G1 2014a. Polícia apreende 4 mil comprimidos de sibutramina em Rio Preto, SP. G1, 22.01.2014. Disponível em: <<http://g1.globo.com/sao-paulo/sao-jose-do-rio-preto-aracatuba/noticia/2014/01/policia-apreende-4-mil-comprimidos-de-sibutramina-em-rio-preto-sp.html>>. Acesso em: 06.04.2015.

G1 2014b. Polícia Civil prende grupo que vendia remédios controlados pela internet. G1, 27.11.2014. Disponível em: <<http://g1.globo.com/sao-paulo/sorocaba-jundiai/noticia/2014/11/policia-civil-prende-grupo-que-vendia-remedios-controlados-pela-internet.html>>. Acesso em: 06.04.2015.

G1 2014c. Remédios para inibição de apetite e disfunção erétil são apreendidos. G1, 24.09.2014. Disponível em: <<http://g1.globo.com/bahia/noticia/2014/09/remedios-para-inibicao-de-apetite-e-disfuncao-eretil-sao-apreendidos-na-ba.html>>. Acesso em: 06.04.2015.

G1 2015. Motorista é flagrado com mais de 37 mil medicamentos proibidos na Bahia. G1, 12.03.2015. Disponível: <<http://g1.globo.com/bahia/noticia/2015/03/motorista-e-flagrado-com-mais-de-37-mil-medicamentos-proibidos-na-bahia.html>>. Acesso em: 07.04.2015.

GUPTA, P; SINGHAL, K & PANDEY, A. Counterfeit (fake) drugs & new technologies to identify it in India. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, India, vol. 3, nº 11, pág. 4057-4064, 2012.

INTERPOL. *Combating pharmaceutical crime requires strong collaboration, says INTERPOL Chief*. 2014. Disponível em: < <http://www.interpol.int/News-and-media/News/2014/N2014-026>>. Acesso em: 05.04.2015.

JACK, A. Regulator tackles fake drugs sold on internet. *Financial Times*, Estados Unidos, nov. 22, 2007.

JÚNIOR, LL; GRECOA, DB & CARNEIRO, M. Avaliação da aderência aos anti-retrovirais em pacientes com infecção pelo HIV/Aids. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, vol. 35, nº 6, pág. 495-501, 2001.

McNEELY, W & GOA, KL. Sibutramine. A review of its contribution to the management of obesity. *Drugs*, Suíça, vol. 56, nº 6, pág. 1093-1124, 1998.

NEWTON, PN. et al. A collaborative epidemiological investigation into the criminal fake artesunate trade in South East Asia. *PLOS Medicine*, Estados Unidos, vol. 5, pág. 209-219, 2008.

ORTIZ, RS. *Perfil químico e tecnológico de medicamentos falsificados: uma abordagem estatística multivariada para os casos do Viagra e do Cialis*. 2013. 90 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre. 2013.

PINHEIRO, ARO; FREITAS, SFT & CORSO, ACT. Uma abordagem epidemiológica da obesidade. *Revista de Nutrição*, São Paulo, vol. 17 nº 4, pág. 523-533, 2004.

Ph. Eur. 2008. *European Pharmacopoeia*. 6.2. ed., France: Council of Europe, 2008. Disponível em: <https://www.edqm.eu/site/Index_6th_Edition_62_English-en-7746-2.html>. Acesso em: 05.04.2015.

REINERS, A. A. O. et al. Produção bibliográfica sobre adesão/não-adesão de pessoas ao tratamento de saúde. *Ciência & Saúde Coletiva*, Rio de Janeiro, vol. 13, nº 2, pág. 2299-2306, 2008.

REYNOLDS, L & MCKEE, M. Organized crime and the efforts to combat it: a concern for public health. *Globalization and Health*, Inglaterra, vol. 6, nº 21, pág. 1-13, 2010.

ROUDAUT, MR. Contrefaçõ: un crime invisible. *Cahiers de la Sécurité*, França, vol. 15, pág. 25-35, 2011.

SILVA, HPC. *Você é o que você come? Um estudo sobre o perfil de sobrepeso e obesidade no Brasil e os determinantes do IMC*. 2011. 49 f. Monografia (Graduação em Ciências Econômicas) - Instituto de Ensino e Pesquisa (INSPER), Faculdade de Economia e Administração, São Paulo. 2011.

TALATI, R; PARIKH, S & AGRAWAL, YK. Pharmaceutical Counterfeiting and Analytical Authentication. *Current Pharmaceutical Analysis*, Emirados Árabes Unidos, vol. 7, pág. 54-61, 2011.

USP 2012. *The United States Pharmacopeia*. 35ª ed., National Formulary, 30º ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention; 2012.

VIRELLA, D. Falsificação de medicamentos. Uma realidade à qual é preciso dar atenção. *Acta Pediátrica Portuguesa*, Portugal, vol. 39, nº 1, pág. 46-50, 2008.

WHO. *Adherence to long-term therapies: evidence for action*. Genebra: WHO. 2003.

WHO. *Counterfeit Drugs: Guidelines for the Development of Measures to Combat Counterfeit Drugs*. Genebra: World Health Organization, 1999.

WHO. *Counterfeit medicines: the silent epidemic*. Geneva: World Health Organization, 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr09/en/index.html>>. Acesso em: 08.06.2013.

WHO. *General information on counterfeit medicines*. Geneva: World Health Organization, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/medicines/services/counterfeit/overview/en/>>. Acesso em: 08.06.2013.

WHO. *Obesity and overweight*. Ficha de informação nº 311, janeiro de 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>>. Acesso em: 08.06.2013.

CAPÍTULO 2 – PERFIL DA SIBUTRAMINA POR ESPECTROSCOPIA DE
INFRAVERMELHO (IV)

2.1 Introdução e Objetivos

O comércio ilícito de medicamentos é um problema mundial que afeta todos os anos milhões de pacientes (WHO, 1999; WHO, 2011; AMES & SOUZA, 2012). Em 2006, acreditava-se que esse tipo de comércio representasse 10% do comércio global de medicamentos (WHO, 2006).

A inclusão digital contribui para a ascensão da venda desses medicamentos, sendo que a internet se transformou no principal veículo de comércio de medicamentos falsificados no mundo (BRASIL, 2010). Segundo dados da WHO (2012), 50% dos medicamentos comprados pela internet são falsos e de sites ilegais que ocultam sua localização física.

O número de medicamentos inautênticos apreendidos no Brasil pela Polícia Federal aumentou nos últimos anos, principalmente nas regiões Sul e Sudeste. Grande parte dos medicamentos apreendidos era estrangeira, principalmente de origem paraguaia, sugerindo que essas mercadorias são produzidas no exterior e entram no país pelos portos e fronteiras (AMES & SOUZA, 2012).

Esses medicamentos representam um alto risco sanitário, pois não são submetidos aos testes de qualidade e eficácia exigidos pela ANVISA, e, não se sabe como são feitos e o que possuem em sua formulação. Deste modo é possível que haja medicamentos falsificados com composições variadas e dosagens irregulares ou mesmo sem princípio ativo (WHO, 2010; AMES & SOUZA, 2012; GUPTA, SINGHAL & PANDEY, 2012).

A espectroscopia de IV é amplamente utilizada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra. É uma técnica de muita importância na análise química qualitativa, sendo amplamente utilizada nas áreas de química de produtos naturais, síntese e transformações orgânicas (MARIN, 2013). No entanto, a técnica possui limitações como, por exemplo, detectar apenas impurezas se estas estiverem em altas concentrações (WATSON, 2005).

Neste contexto, o presente capítulo tem como objetivo investigar a presença de sibutramina nas 12 amostras de origens distintas a partir da

análise por espectrometria de IV e da identificação das regiões características da estrutura química da sibutramina nos espectros obtidos.

2.2 Revisão Bibliográfica

A espectroscopia no IV se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibrações específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (ALBUQUERQUE, 2008), ou seja, as moléculas de estruturas diversas nunca terão aspectos idênticos, pois cada tipo de ligação tem uma frequência própria de vibração (PAIVA et al., 2007).

Essa energia da molécula é absorvida e registrada a partir da passagem, pela amostra, de um raio monocromático de luz infravermelha, dando origem a um espectro de IV numa faixa de comprimento de onda de interesse (ALBUQUERQUE, 2008).

Segundo Silverstein, Webster e Kiemle (2005) e Marin (2013), o espectro de IV pode ser dividido em três regiões conforme as faixas de frequências:

- Região dos grupos funcionais ($4000-1200\text{ cm}^{-1}$): ocorre a maior parte das vibrações de estiramento das ligações mais importantes dos grupos funcionais das moléculas orgânicas;
- Região de impressão digital ($1300-900\text{ cm}^{-1}$): acontece absorções do tipo deformação angular. É uma região muito complexa, pois cada molécula apresenta um padrão de absorção característico, como se fosse realmente uma impressão digital da substância, além de apresentar um grande número de bandas de absorção;
- Região das deformações angulares fora do plano é representada pela faixa de frequência de aproximadamente $1000-400\text{ cm}^{-1}$.

Como pode ser confirmada na Figura 5 e em Silverstein, Webster e Kiemle (2005), a região dos alcanos, na deformação axial, é de $2840-3000\text{ cm}^{-1}$ e, na deformação angular, de $1375-1455\text{ cm}^{-1}$, a do C-N é $1250-1020\text{ cm}^{-1}$ e da

região de $860-690\text{ cm}^{-1}$ aparecem as bandas de absorção de C-H angular fora do plano, essas bandas mostram informações a respeito dos substituintes no anel. Sendo que o anel é *orto*-substituído, *meta*-substituído ou *para*-substituído quando possui, respectivamente, uma banda intensa na região de $770-735\text{ cm}^{-1}$, duas bandas intensas nas regiões de $810-750\text{ cm}^{-1}$ e $735-680\text{ cm}^{-1}$ e, uma banda intensa na região de $860-800\text{ cm}^{-1}$ (LOPES & FASCIO, 2004; MARIN, 2013).

Esses dados auxiliam a interpretação de espectros de IV de sibutramina, pois estes espectros devem ter regiões correspondentes aos grupamentos C-N, N-H, C-H alifáticos e aromáticos, C=C aromático, *para*-substituído e C-Cl, conforme a estrutura química apresentada na Figura 6.

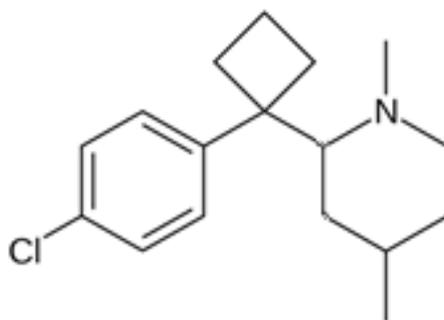


Figura 6. Estrutura química da sibutramina (Fonte: MASSONI & SUYENAGA, 2012).

O grupamento N-H presente nos espectros de IV de sibutramina é uma amina terciária que recebeu um hidrogênio do cloridrato (Figura 7), visto que a sibutramina é comercializada na forma de cloridrato de sibutramina

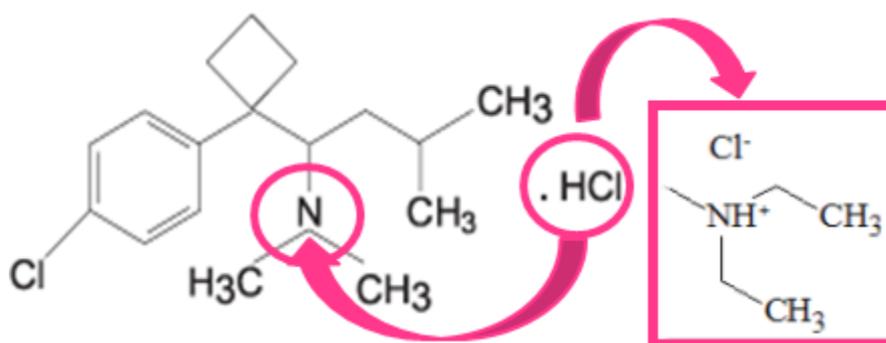


Figura 7. Doação do hidrogênio do HCl para a amina terciária da sibutramina.

A sibutramina, CAS 125494-59-9, possui peso molecular e fórmula molecular, respectivamente, de $233,5\text{ g/mol}$ e $\text{C}_{17}\text{H}_{26}\text{ClN}$ (MASSONI & SUYENAGA, 2012; ACEVES-HERNÁNDEZ et al., 2013) e na forma de

cloridrato ($C_{17}H_{26}ClN \bullet HCl \bullet H_2O$) possui peso molecular de 334,33 g/mol (BULA, 2015).

A espectroscopia de IV é um método rápido, fácil, que não destrói a amostra e largamente empregado na identificação ou investigação de composto (MARIN, 2013). Sendo assim é um bom método para analisar amostras de origens duvidosas, visto que não se sabem suas composições (IVAMA et al., 2005; WHO, 2010).

2.3 Materiais e Métodos

2.3.1 Amostras e e Padrão

A sibutramina substância química de referência (SQR) foi comprada de *SynFine Research* (Richmond Hill, ON, Canadá).

Foram adquiridas 2 amostras autênticas em farmácias comerciais e 10 amostras no comércio informal, principalmente através da *internet*.

As amostras foram identificadas com as letras de A a L e essa identificação permaneceu a mesma para todos os estudos realizados nesta dissertação. As amostras autênticas foram chamadas de A e B e as consideradas, a princípio, falsificadas de C à L.

2.3.2 Equipamento

Espectrofotômetro de infravermelho *PerkinElmer* (Waltham, MA, EUA), modelo *Spectrum Two*, nº de série 98507 e *software PerkinElmer Spectrum* (v. 10.4.2).

2.3.3 Análise por espectroscopia de IV

Os espectros de cada amostra foram obtidos pela análise direta das fases sólidas no espectrofotômetro de IV, operado no modo de varredura de 4

scans e resolução de 16, na faixa espectral compreendida entre 4000 a 400 cm^{-1} .

2.4 Resultados e Discussão

Os excipientes são os ingredientes inativos da formulação, ou seja, são substâncias isentas de ação terapêutica, mas que asseguram a estabilidade e as propriedades físico-químicas e organolépticas dos produtos farmacêuticos (BALBANI, STELZER & MONTOVANI, 2006).

As amostras A e B eram as únicas que apresentavam bulas, por isso, seus excipientes foram levados em consideração para a análise dos espectros de IV de todas as amostras, uma vez que os excipientes podem interferir nas análises. Ambas as amostras possuem, segundo a bula, celulose microcristalina, lactose monoidratada, dióxido de silício e estearato de magnésio. Além destes, a amostra B contém amido glicolato de sódio.

A celulose microcristalina (Figura 7) possui fórmula molecular $(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_5)_n$, onde n é aproximadamente 220. É higroscópica e estável, sendo amplamente utilizada em produtos farmacêuticos, principalmente como ligante / diluente em formulações de comprimidos e de cápsulas orais, onde é usado em processos de granulação úmida e de compressão direta. Em adição à sua utilização como um ligante / diluente, a celulose microcristalina também tem alguma propriedade lubrificante e desintegrante que a torna útil em comprimidos. Além disso, não apresenta nenhum potencial tóxico ou irritante. O espectro de IV da celulose microcristalina se encontra na Figura 8 (FIGUEIREDO, 2012; ROWE, SHESKEY & QUINN, 2012).

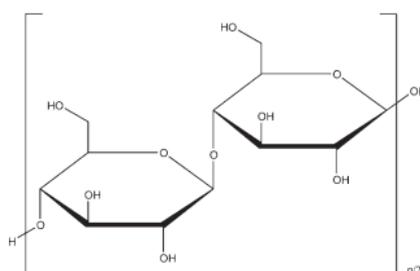


Figura 8. Estrutura molecular da celulose microcristalina. (Fonte: ROWE, SHESKEY & QUINN, 2012).

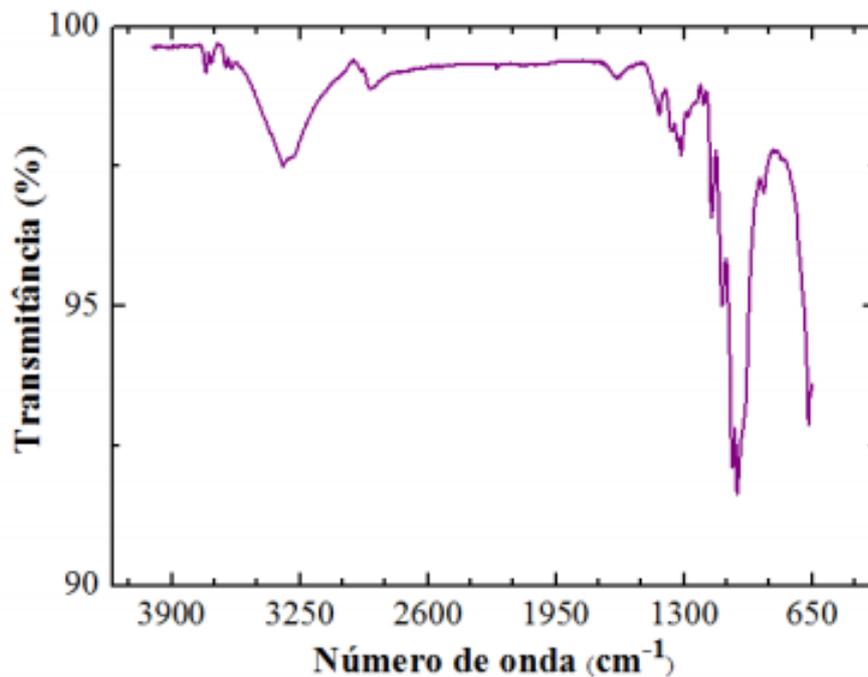


Figura 9. Espectro de IV da celulose microcristalina. (Fonte: FIGUEIREDO, 2012).

As bandas características no espectro de IV da celulose microcristalina são 3336, 2900, 1430, 1372, 1318, 1289, 1230, 1206, 1156, 1031, 984 e 897 cm^{-1} representando, respectivamente, as ligações químicas O-H (ligação de hidrogênio com estiramento), C-H, CH_2 , C-H, CH_2 , C-H, COH no plano (deformações em 1230 e 1206), deformação COC na ligação $\beta(1,4)$, CO (1031 e 984) e estiramento COC na ligação $\beta(1,4)$, COC, CCO e CCH em C5 e C6 (FIGUEIREDO, 2012).

A lactose monoidratada pode ser comercializada na forma de granulados ou aglomerados, possui fórmula molecular $\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (Figura 9), peso molecular 360,31 g/mol. É muito utilizada como diluente ou para preenchimento de cápsulas e, de uma forma não tão usual, na preparação de formas farmacêuticas liofilizadas e alimentos pediátricos. Apresentam a desvantagem de formar compostos de cor marrom (reação de *Maillard*) na presença de fármacos e outros excipientes que contenham grupamentos amina primária, secundária ou sais de compostos aminados. Isso ocorre facilmente com a porção amorfa da lactose, a qual também é responsável pela reação de descoloração (FIGUEIREDO, 2012; ROWE, SHESKEY & QUINN, 2012).

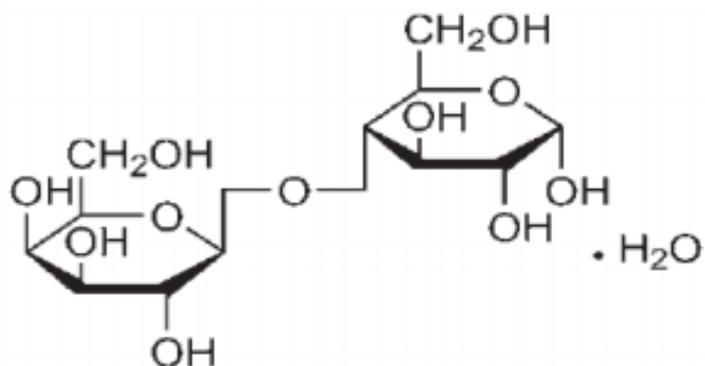


Figura 10. Estrutura molecular da lactose monoidratada. (Fonte: ROWE, SHESKEY & QUINN, 2012).

No entanto, nenhum dos pós das amostras apresentou outra cor se não branco, sugerindo que não ocorreu reação de *Maillard*, o que era de se esperar, pois a sibutramina possui em sua estrutura uma amina terciária e ainda não há estudos que comprovem que a lactose reaja com esta parte da estrutura.

O espectro de IV da lactose monoidratada (Figura 10) apresentou uma banda fraca em 1656 cm^{-1} e entre 1200 cm^{-1} e 1070 cm^{-1} , que correspondem respectivamente, à deformação angular dos grupos OH da água, e ao estiramento assimétrico da ligação COC. Além disso, apresentou bandas características entre 3600 cm^{-1} e 3200 cm^{-1} correspondentes ao estiramento axial do grupo hidroxila, sendo que em 3521 cm^{-1} é visível uma acentuada banda característica da forma monoidratada (Fonte: FIGUEIREDO, 2012).

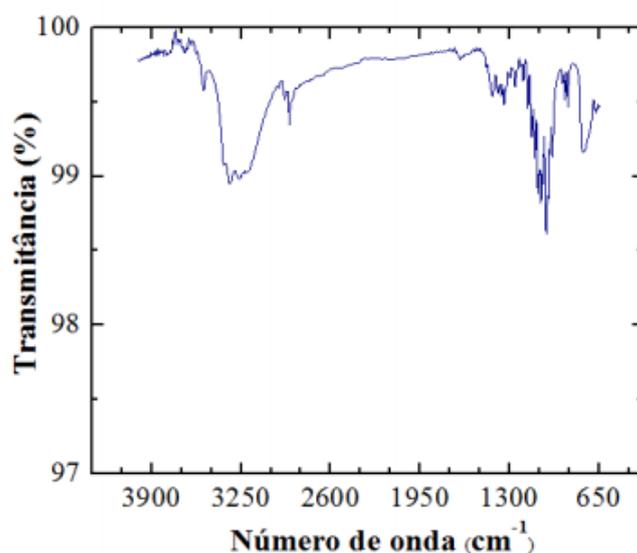


Figura 11. Espectro de IV da lactose monoidratada. (Fonte: FIGUEIREDO, 2012).

Já os pós do excipiente estearato de magnésio (Figura 11), fórmula molecular ($C_{36}H_{70}MgO_4$), são grânulos de baixa densidade, oleoso ao toque que aderem facilmente à pele. Ele é praticamente insolúvel em álcool, éter e água, e é pouco solúvel em álcool a 95% aquecido. Age como lubrificante e antiaderente nas formulações, apresentando natureza hidrofóbica sendo incompatível com substâncias ácidas, alcalinas e sais de ferro. Além disso, pelo fato de ser hidrofóbico, o estearato de magnésio pode retardar a dissolução de um fármaco em uma forma farmacêutica sólida. Portanto, a menor concentração possível desse lubrificante deve ser utilizada nas formulações (FIGUEIREDO, 2012; ROWE, SHESKEY & QUINN, 2012).

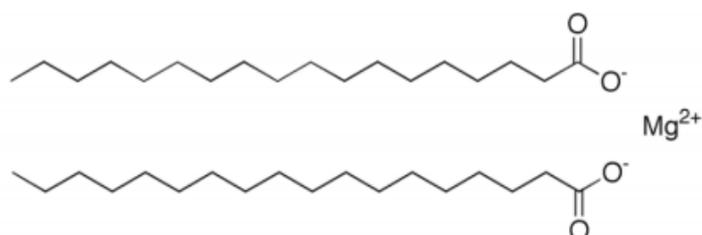


Figura 12. Estrutura molecular do estearato de magnésio. (Fonte: FIGUEIREDO, 2012).

Na Figura 12 está representado um espectro com 7 amostras de estearato de magnésio, cujas principais bandas características são 2900 (C-H), 1700 (C=O), 1616-1540 (COO⁻), 1470-1460 (C-H) e 720 cm^{-1} (CH₂) (Fonte: FIGUEIREDO, 2012).

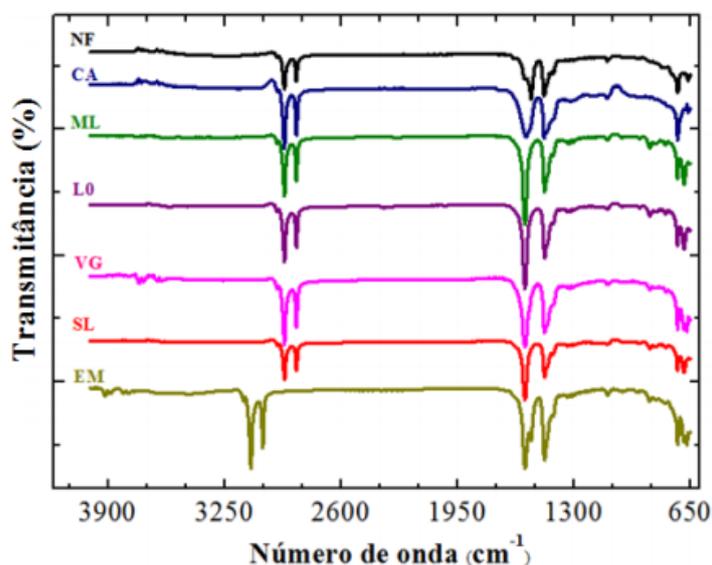


Figura 13. Espectro de IV amostras de estearato de magnésio. (Fonte: FIGUEIREDO, 2012).

O dióxido de silício coloidal, fórmula e peso molecular, respectivamente, SiO_2 e 60,08 g/mol, possui funções como adsorvente, antiaglomerante, deslizante (melhora a fluxabilidade dos pós), desintegrante, estabilizador térmico e agente de aumento de viscosidade (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2012).

O espectro de IV do dióxido de silício coloidal (Figura 13) apresenta uma deformação axial em $\sim 3600 \text{ cm}^{-1}$ da ligação O-H livre e em torno de 1110 cm^{-1} da deformação axial da ligação Si-O (LONGHINI, 2006).

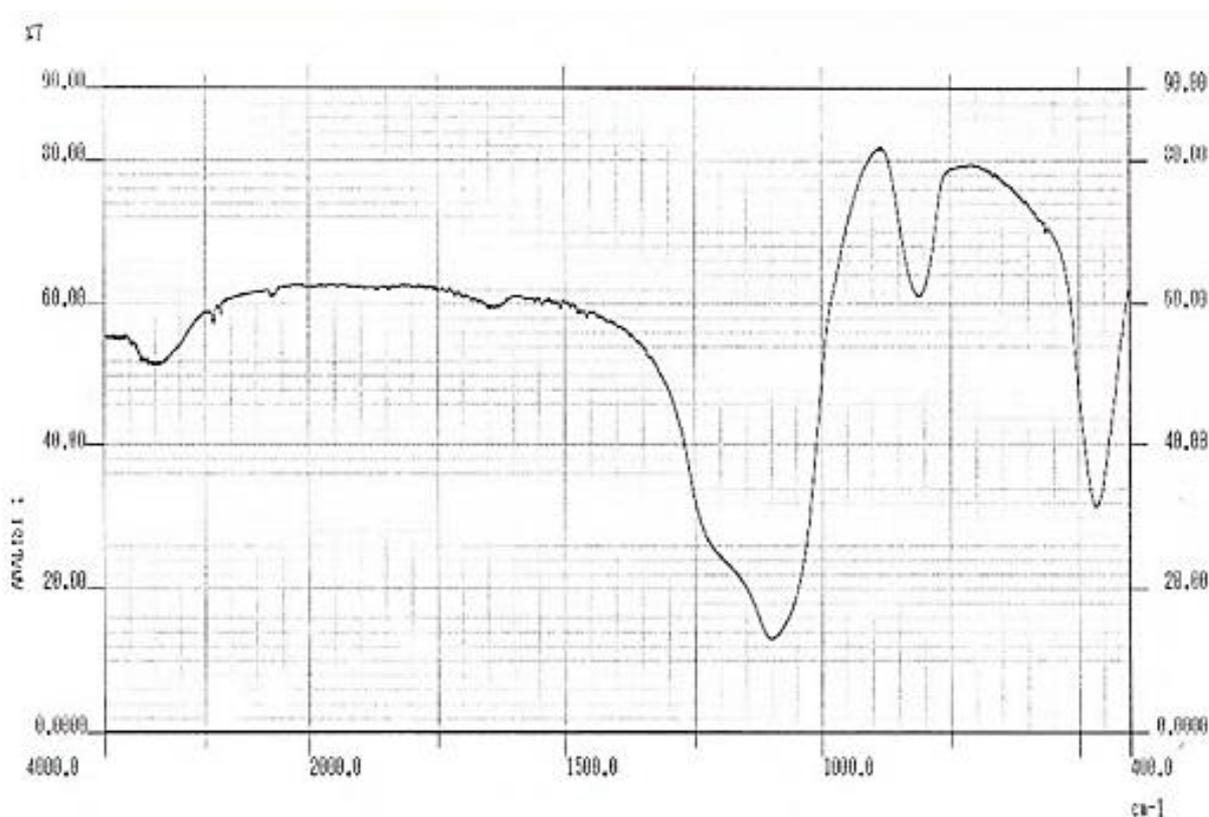


Figura 14. Espectro de IV do dióxido de silício (Fonte: LONGHINI, 2006).

Das duas amostras que apresentavam bula, apenas a amostra B continha amido glicolato de sódio (Figura 14). Este excipiente tem função desintegrante, cuja desintegração ocorre por absorção rápida de água seguida por rápido e enorme inchaço. Embora a eficácia de diversos agentes de desintegração é afetada pela presença de excipientes hidrofóbicos, tais como lubrificantes, a eficiência do amido glicolato não é afetada (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2012).

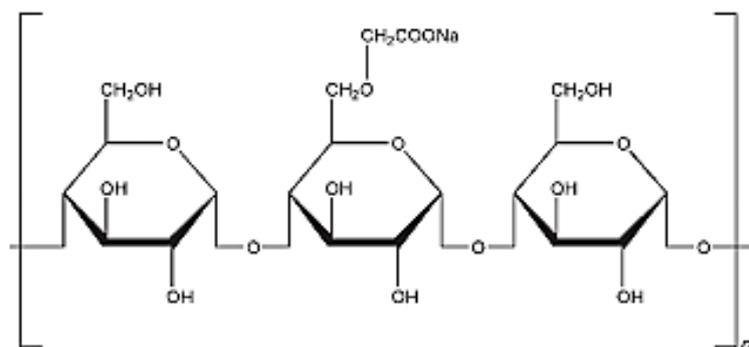


Figura 15. Estrutura molecular do amido glicolato de sódio. (Fonte: ROWE, SHESKEY & QUINN, 2012).

O espectro de IV do amido glicolato de sódio está na Figura 15, cujas bandas que caracterizam a estrutura são $\sim 3400\text{ cm}^{-1}$ (deformação axial da ligação O-H em ligações de hidrogênio intramoleculares), $\sim 2850\text{ cm}^{-1}$ (deformação axial da ligação C-H), $\sim 1610\text{ cm}^{-1}$ (deformação axial assimétrica da ligação C=O do íon carboxilato), $\sim 1425\text{ cm}^{-1}$ (deformação angular da ligação O-H), $\sim 1140\text{ cm}^{-1}$ (deformação axial da ligação C-O-C), ~ 1100 a 900 cm^{-1} (região de deformação axial assimétrica da ligação C-O-C), $\sim 844\text{ cm}^{-1}$ (vibração de C-H na posição equatorial da ligação α -1,4 (LONGHINI, 2006).

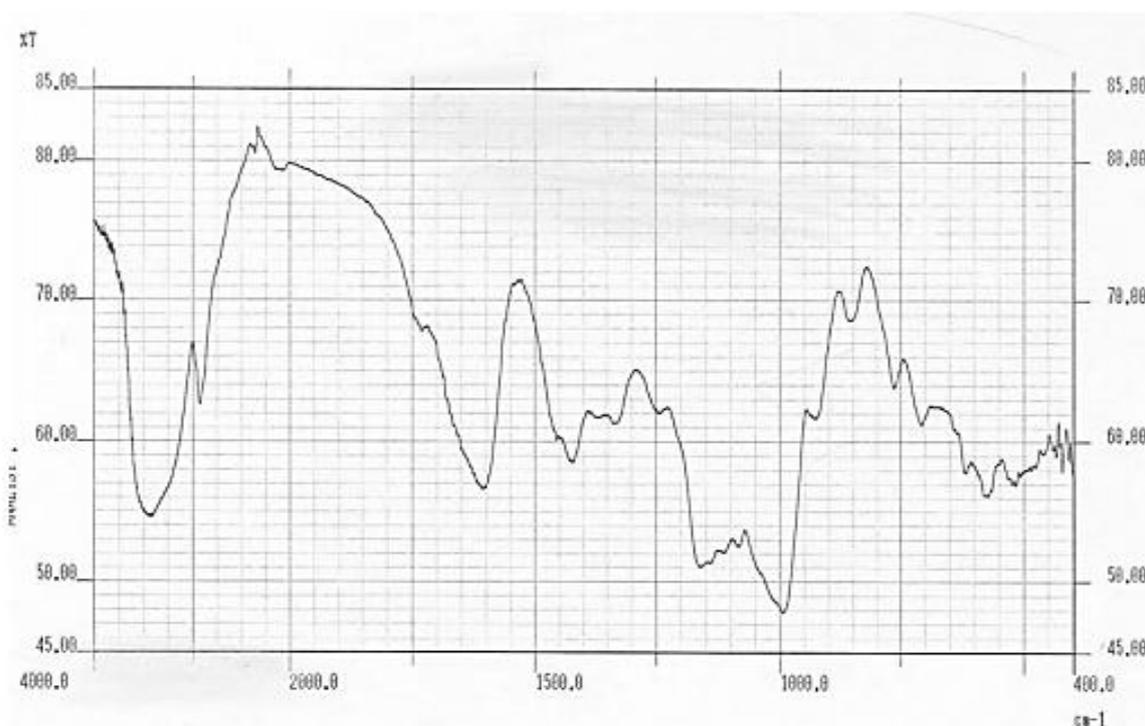


Figura 16. Espectro de IV do amido glicolato de sódio (Fonte: LONGHINI, 2006).

Na Figura 17 encontra-se o espectro de IV da sibutramina SQR, que foi obtido pela análise direta da fase sólida no espectrofotômetro de IV, operado no modo de 20 scans, na faixa espectral compreendida entre 4000 a 600 cm^{-1} . O equipamento utilizado para obtenção deste espectro de IV foi diferente do utilizado na análise das amostras, este equipamento foi um Espectrofotômetro de IV PerkinElmer (Waltham, MA, EUA), modelo Spectrum BX, nº de série 82505 e software era Spectrum (v. 5.3.1).

Já nas Figuras 18 a 29 estão representados os espectros de IV da sibutramina SQR, das 12 amostras analisadas e as suas principais bandas de atribuição, que também podem ser encontrados na Tabela 4.

Tabela 4. Regiões características da estrutura química de sibutramina.

Banda (cm^{-1})^a	3600-3200	3650-3100	3000-2840	1455-1375 ^b	1600-1450 ^c	1230-1030	860-800	1096-1089
Atribuição^a	R_3NH^+	OH	C-H (alcano axial)	C-H (alcano angular)	C=C (aromático)	C-N (da amina)	Anel 1,4 <i>di</i> -substituído	Clorobenzeno
Sibutramina SQR	3421		2945	1407 1371	1492 1473	~1050	853	~1090
Amostra A	3331	3265	2900	1400 1340	1585 1545	~1050	875	~1090
Amostra B	3330	3260	2900	1408 1341	1590 1550	~1050	875	~1090
Amostra C	-	3288	2930	1450 1367	1630	~1030	861	-
Amostra D	-	3275	2930	1445 1364	1630	~1030	863	-
Amostra E	-	3277	2925	1433 1341	1625	~1030	863	-
Amostra F	3330	3264	2899	1399 1360 1339	1585 1550	~1050	875	~1090
Amostra G	3324	3270	2935	1462 1345	1620	~1000	864	~1090
Amostra H	3331	3260	2900	1457 1360	1643 1540	~1030	870	-
Amostra I	3330	3260	2901	1426 1339	1595 1550	~1050	880	~1090
Amostra J	3330	3270	2900	1400 1345	1585 1540	~1050	875	~1090
Amostra K	3330	3260	2900	1400 1339	1585 1540	~1050	875	~1090
Amostra L	3325	3270	2937	1465 1345	1620	~1000	865	~1090

^aBaseado em Lopes e Fascio (2004), Silverstein, Webster e Kiemle (2005) e Marin (2013); ^b São caracterizadas por duas a três bandas; ^c São caracterizadas por duas a quatro bandas.

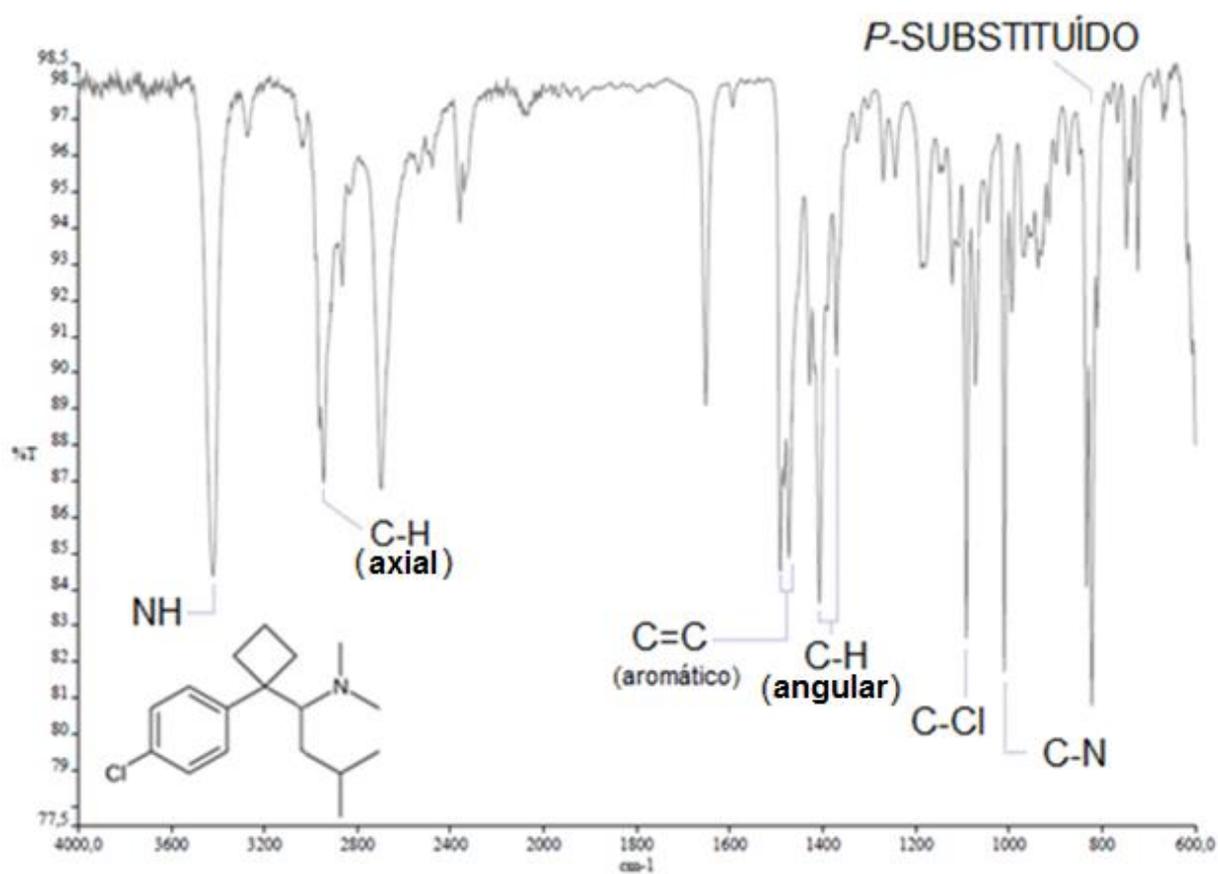


Figura 17. Espectro de IV da sibutramina SQR.

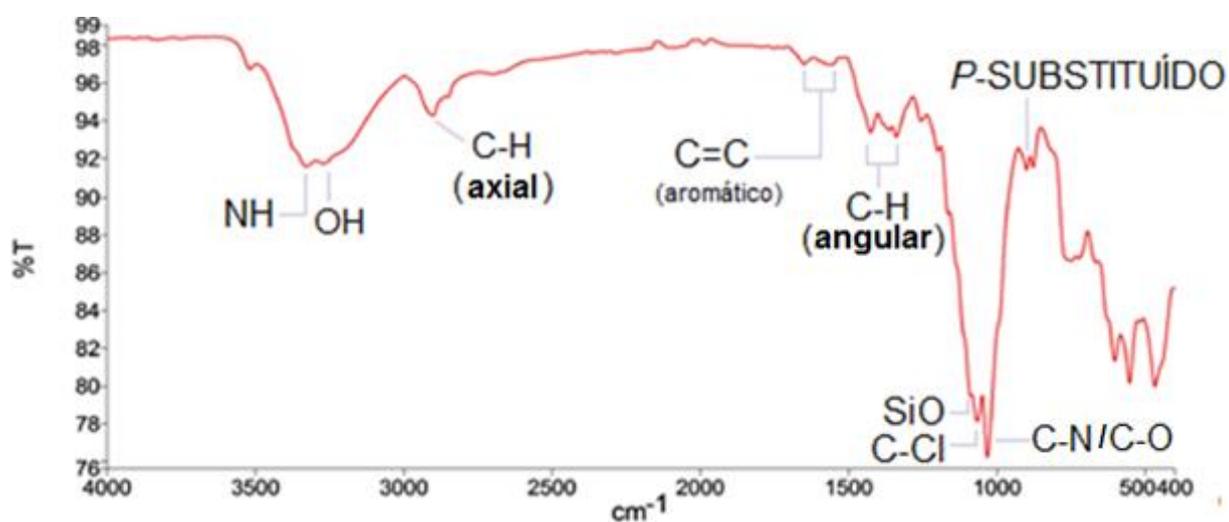


Figura 18. Espectro de IV da amostra A.

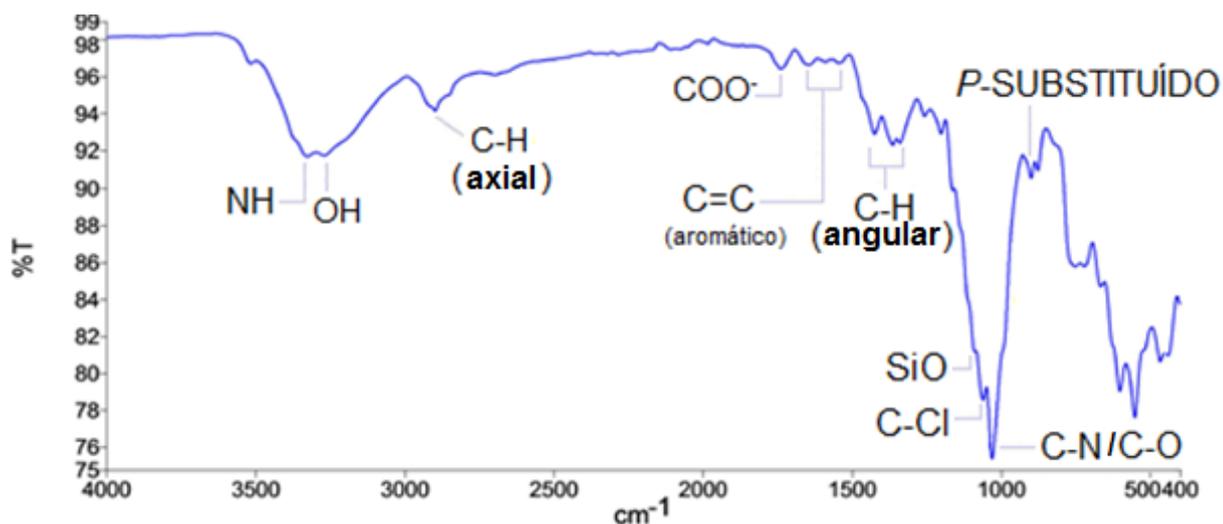


Figura 19. Espectro de IV da amostra B.

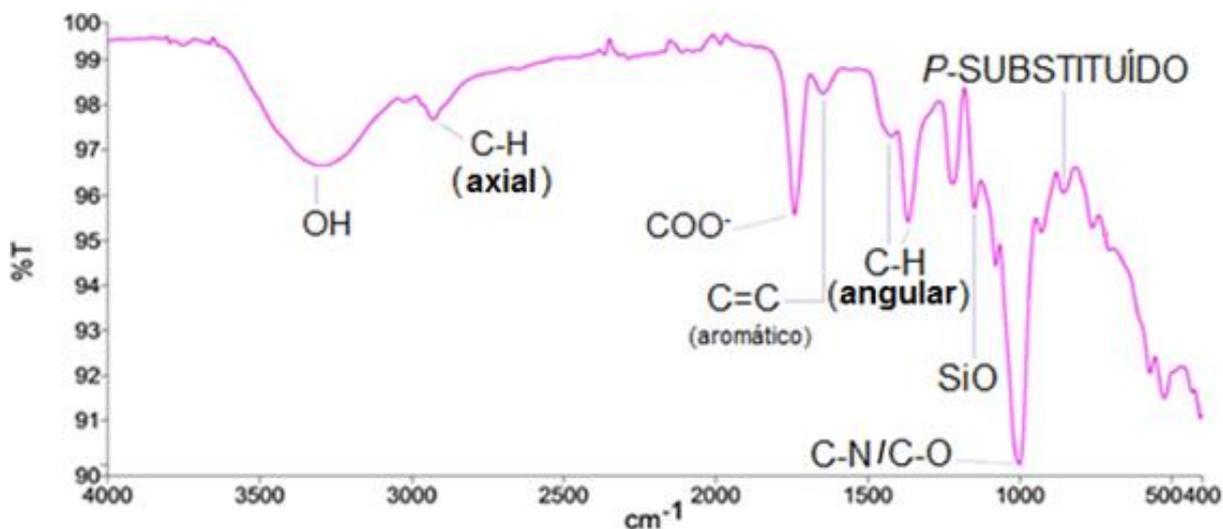


Figura 20. Espectro de IV da amostra C.

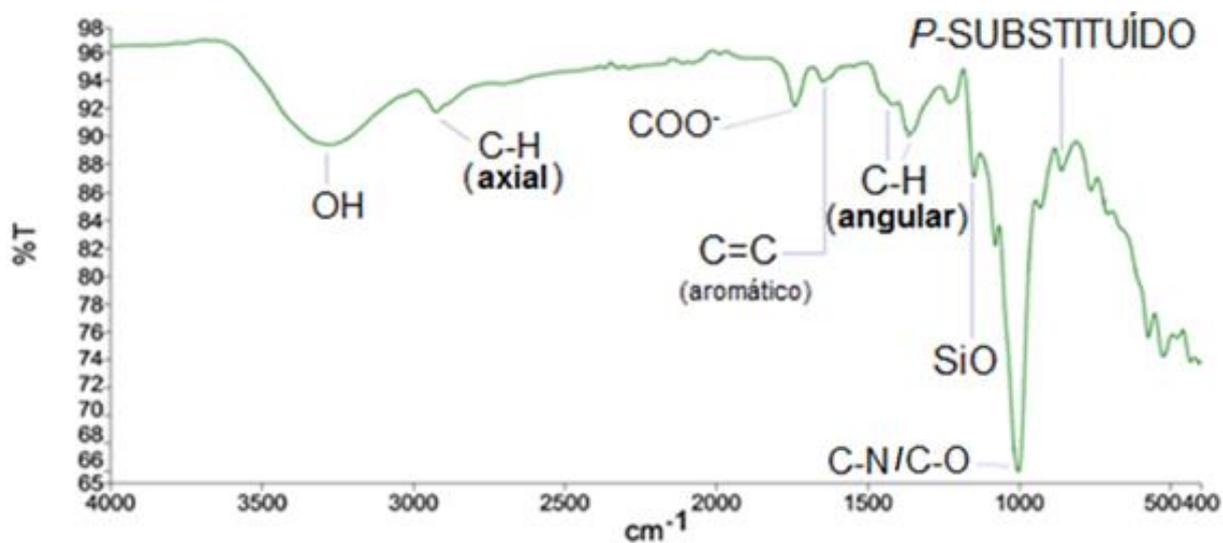


Figura 21. Espectro de IV da amostra D.

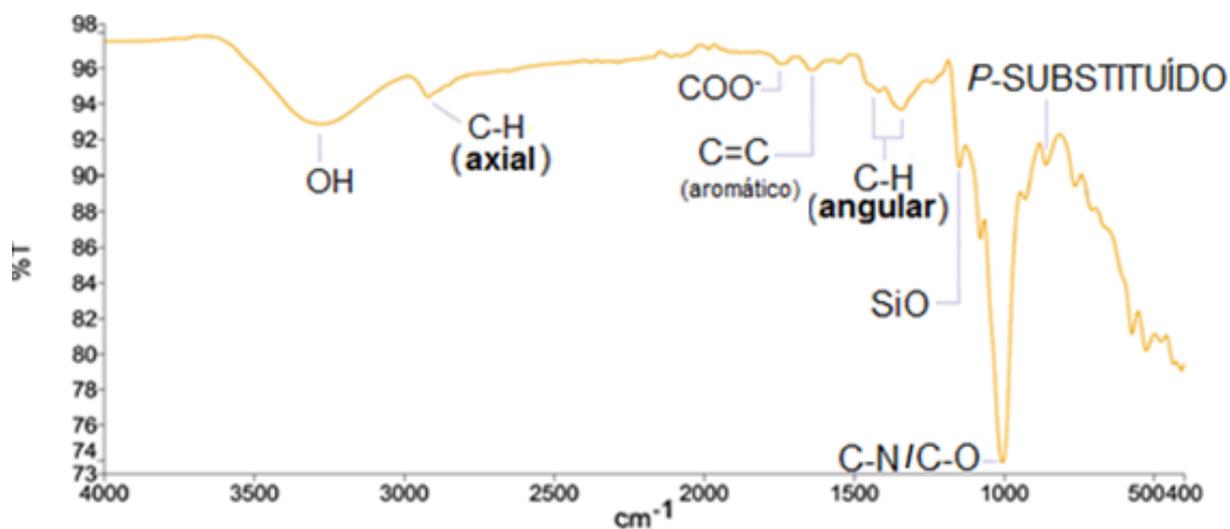


Figura 22. Espectro de IV da amostra E.

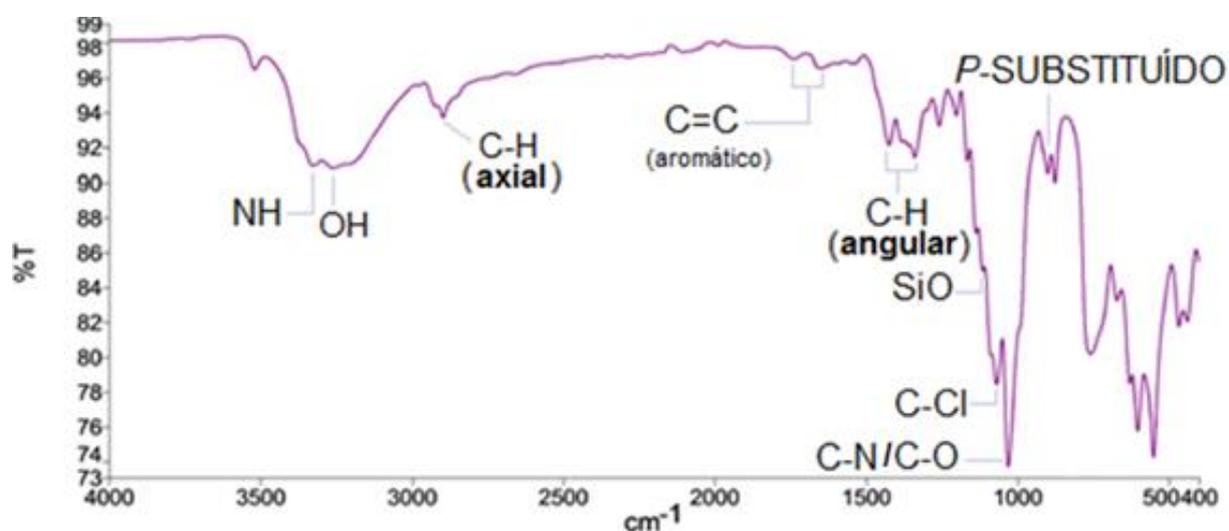


Figura 23. Espectro de IV da amostra F.

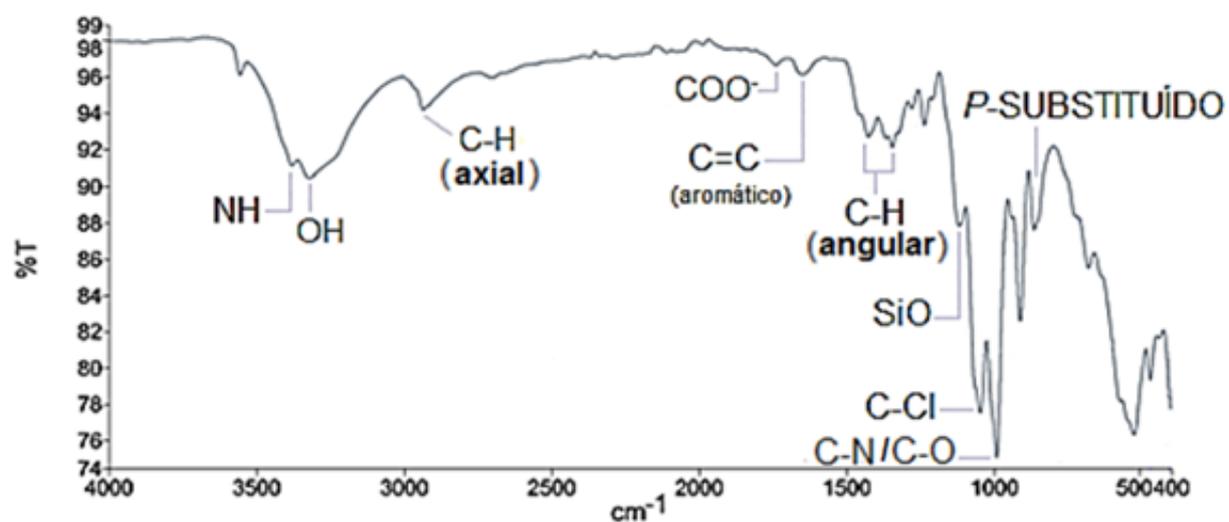


Figura 24. Espectro de IV da amostra G.

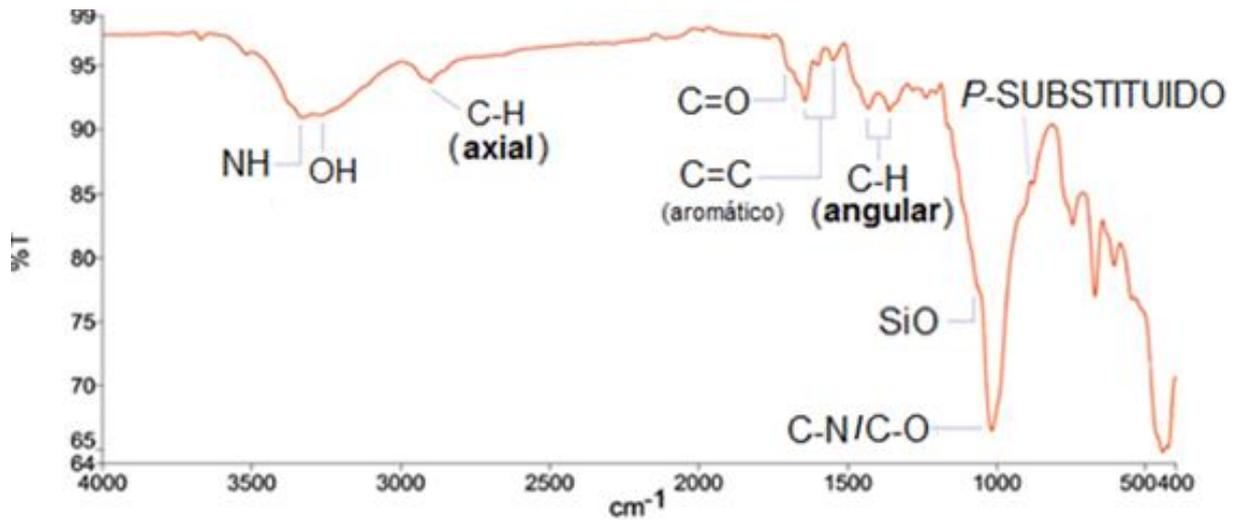


Figura 25. Espectro de IV da amostra H.

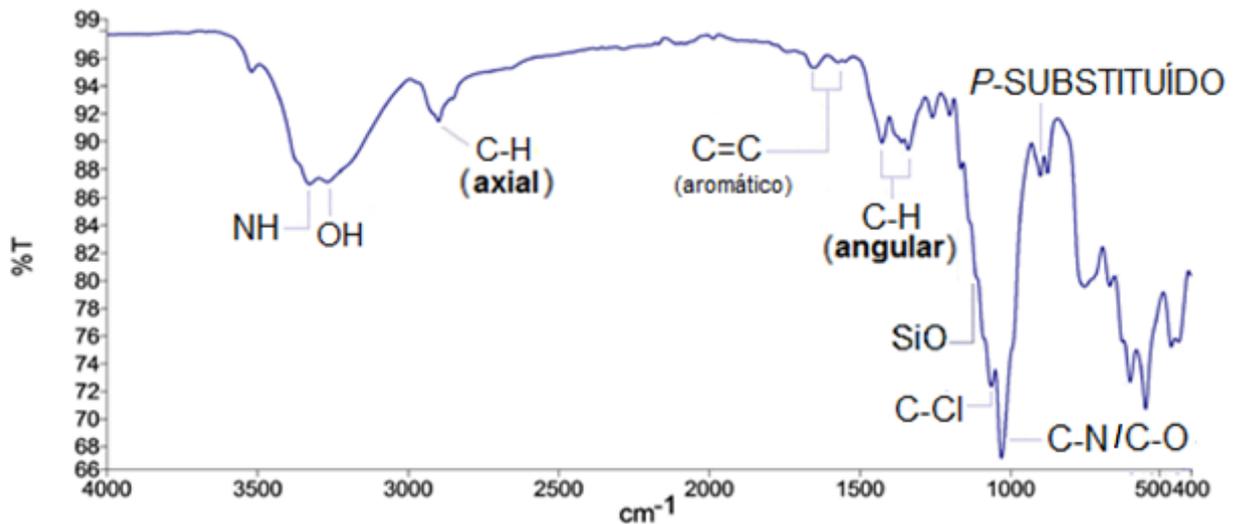


Figura 26. Espectro de IV da amostra I.

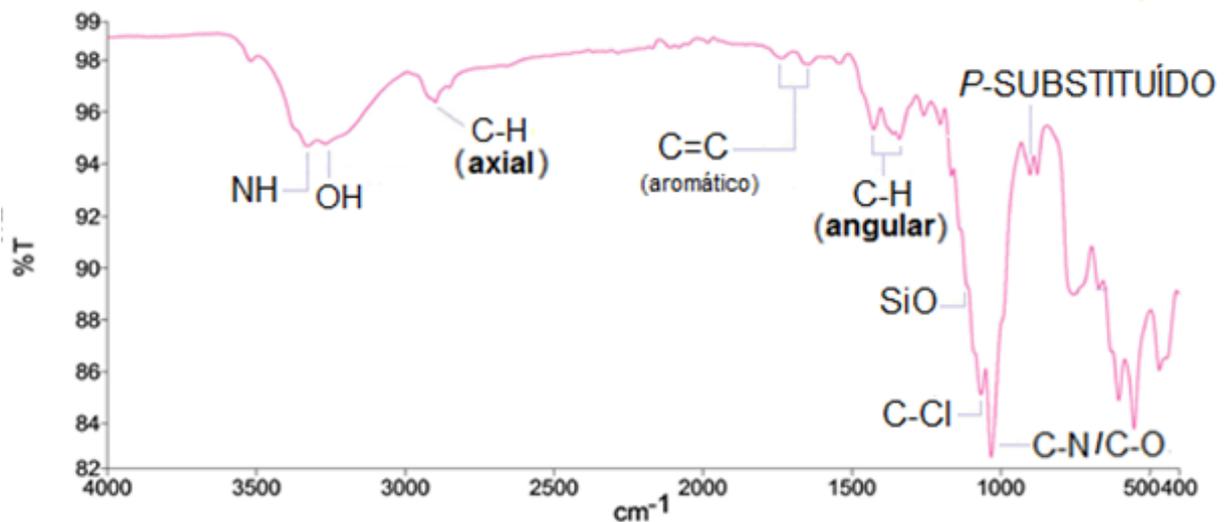


Figura 27. Espectro de IV da amostra J.

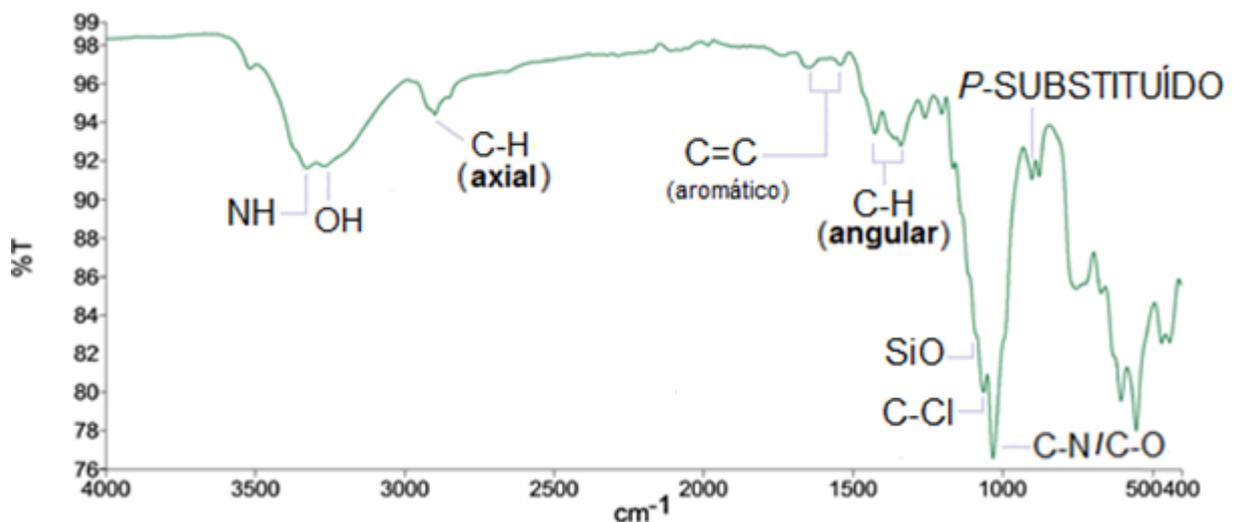


Figura 28. Espectro de IV da amostra K.

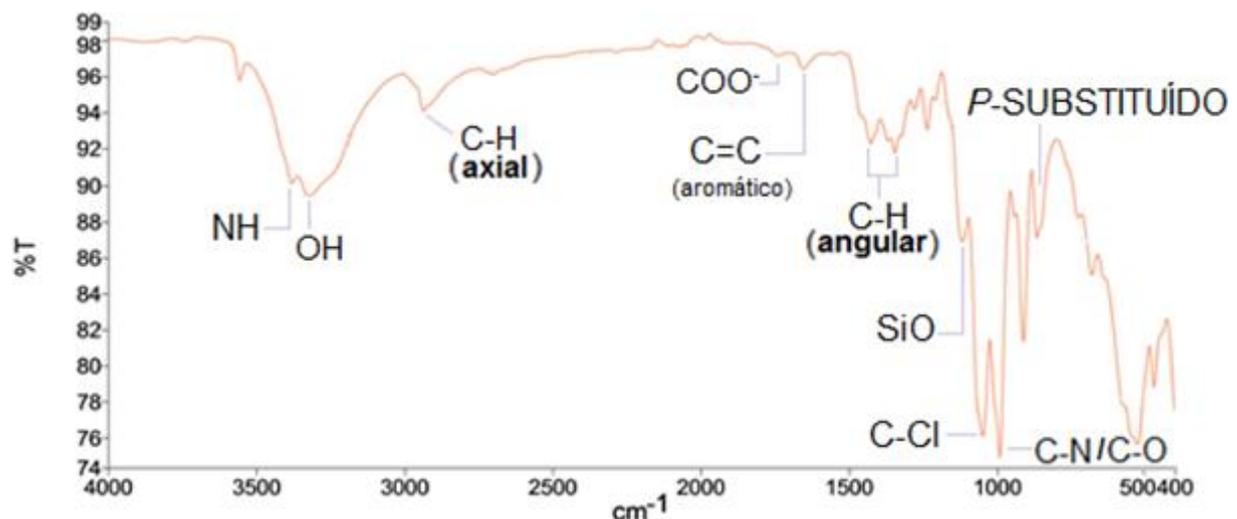


Figura 29. Espectro de IV da amostra L.

Assim como no espectro de IV da lactose monoidratada, os espectros de todas as amostras analisadas apresentaram banda alargada entre 3600 cm^{-1} e 3200 cm^{-1} , características de banda de OH (estiramento axial) em pontes de hidrogênio, uma vez que as amostras em estudo eram bastante hidrocópias devido aos excipientes que possuíam e suas características de hidratação. As bandas nessa região atrapalham a identificação da banda NH, já que mascaram essa banda, pois ela é bem fina. Apesar de intensa na sibutramina, é importante lembrar que na formulação sua concentração é baixa (3-5%).

Todas as amostras possuíam banda em torno de 1750 cm^{-1} e de 1110 cm^{-1} , que correspondiam, respectivamente, aos excipientes estearato de magnésio (grupamento COO^-) e dióxido de silício (grupamento SiO). Exceto as amostras A, F, H, I, J e K que não apresentaram banda de COO^- .

Todas as amostras apresentaram bandas entre $1000\text{-}1260\text{ cm}^{-1}$, que pode ser do grupamento C-O, no entanto, essa banda também pode corresponder ao grupamento C-N, presente na estrutura química de sibutramina, pois a banda C-N pode ser encontrada na região entre $1020\text{-}1250\text{ cm}^{-1}$ (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2005). No entanto, apenas com a análise dos espectros não foi possível afirmar a qual grupamento pertence aquela banda, ou se ambas as bandas estão sobrepostas. Essa banda C-O pode ser justificada pela presença dos excipientes celulose microcristalina e/ou amido glicolato de sódio, que possuem n ligações C-O em suas estruturas moleculares (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2012).

As amostras C, D e E não apresentaram em seus espectros de IV a banda de N-H, presente nos espectros das demais amostras. Essas amostras e a amostra H não apresentaram a banda correspondente ao grupamento clorobenzeno, que seria na região de $1096\text{-}1089\text{ cm}^{-1}$, característica de sibutramina. Logo, não se pode confirmar que estas amostras possuem sibutramina.

Como por ser visto na Figura 17 e confirmado em tabelas encontradas na literatura,, as bandas que caracterizaram as amostras como sendo sibutramina estavam em aproximadamente 1050 cm^{-1} (característica de C-N), 1090 cm^{-1} (grupamento clorobenzeno), 870 e 880 cm^{-1} (referente ao anel 1,4 *di*-substituído) e as bandas do grupamento C-H axial (em torno de 2930) e C-H angular (próximas a 1400 , 1361 e 1340 cm^{-1}).

Conforme o que já foi exposto, não pode ser confirmado apenas através da inspeção visual dos espectros que todas as amostras apresentaram bandas nas regiões características dos grupamentos de sibutramina e de alguns dos excipientes descritos nas bulas das amostras A e B. Entretanto, as outras 8 amostras apresentaram bandas características de sibutramina.

Portanto, os espectros apresentaram perfis de absorção diferenciados, principalmente na região de impressão digital (região entre 1300 e 900 cm^{-1}). Analisando essas diferenças nos contornos e nas intensidades relativas das bandas foi possível sugerir a divisão das amostras em três grupos por similaridade e, conseqüentemente, sugerir uma possível composição qualitativa das amostras e, talvez, origem semelhante das amostras. Integram cada grupo:

- a) Amostras A, B, F, I, J e K;
- b) Amostras C, D e E;
- c) Amostras G e L.

Todavia, a amostra H não se encaixou em nenhum dos grupos, pois apresentou os contornos das bandas mais distintos em relação às demais amostras, além das diferenças presentes nas regiões de atribuições do anel 1,4 *di*-substituído, C=C aromático e uma banda em 1760 cm^{-1} , que, segundo Lopes e Fascio, (2004), pode corresponder à região de C=O de éster.

2.5 Conclusão

Apenas pela inspeção visual dos espectros de IV e pela atribuição das bandas de acordo com dados disponíveis em literaturas, não foi possível confirmar que todas as amostras possuíam sibutramina, apenas as amostras A, B, F, G, I, J, K e L foram compatíveis com as bandas apresentadas no espectro da sibutramina SQR. A identificação da sibutramina por espectrometria de IV ficou prejudicada nas amostras devido à sua baixa concentração na forma farmacêutica, associado às características dos excipientes, que apresentam bandas intensas em diferentes regiões do espectro. Contudo, estes fatores podem ser úteis para atribuir às amostras composições qualitativas e, conseqüentemente, uma provável mesma origem. As amostras foram divididas em três grupos conforme a semelhança das bandas dos espectros, sendo constituídos por, respectivamente, seis (A, B, F, I, J e K), três (C, D e E) e duas amostras (G e L), mas a amostra H não apresentou espectro semelhante às demais amostras e, assim, não se pode sugerir que pertença a um dos três grupos.

2.6 Referências Bibliográficas

ACEVES-HERNÁNDEZ, JM et al. Sibutramine characterization and solubility, a theoretical study. *Journal of Molecular Structure*, Alemanha, vol. 1038, pág. 163–169, 2013.

ALBUQUERQUE, CA. *Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de sistemas nanoscópicos bioativos*. 2008. 133 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Materiais para Engenharia) - Programa de Pós-Graduação em Materiais para Engenharia, Universidade Federal de Itajubá, Minas Gerais. 2008.

AMES, J; SOUZA, DZ. Falsificação de medicamentos no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, vol. 46, nº 1, pág. 154-159, 2012.

BALBANI, APS; STELZER, LB; MONTOVANI, JC. Excipientes de medicamentos e as informações da bula. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, São Paulo, vol. 72, nº 6, pág. 400-406, 2006.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). O que devemos saber sobre medicamentos. (Cartilha 2010). Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/92aa8c00474586ea9089d43fbc4c6735/Cartilha%2BBaixa%2Bbrevis%C3%A3o%2B24_08.pdf?MOD=AJPERES> . Acesso em: 02.09.2014.

BULA, Sibutramina. 2015 Disponível em: <<http://www.medicinanet.com.br/bula/4701/sibutramina.htm>>. Acesso em: 01.07.2015.

FIGUEIREDO, LP. *Análise de excipientes em comprimidos de fármacos comercializados*. 2012. 168 f. Dissertação (Mestrado em Nanociências e Materiais Avançados) - Programa de Pós-Graduação em Nanociências e Materiais Avançados, Universidade Federal do ABC, São Paulo. 2012.

GUPTA, P; SINGHAL, K & PANDEY, A. Counterfeit (fake) drugs & new technologies to identify it in India. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, India, vol. 3, nº 11, pág. 4057-4064, 2012.

IVAMA, MA et al. Prevenção e Combate à falsificação e fraude de medicamentos: uma responsabilidade compartilhada. Brasília: OPAS: Anvisa, 318 pág., 2005. (Série técnica medicamentos e outros insumos essenciais para a saúde).

LONGHINI, R. *Avaliação de interações do ácido gálico frente a adjuvantes empregados em formas farmacêuticas sólidas*. 2006. 200 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2006.

LOPES, WA; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Química Nova*, São Paulo, vol. 27, nº 4, pág. 670-673, 2004.

MASSONI, T & SUYENAGA, ES. Sibutramina sob a óptica da química medicinal. *Revista Eletrônica de Farmácia*, Goiás, vol. IX, nº 4, pág. 59-68, 2012.

MARIN, EP. *Espectroscopia de infravermelho e suas aplicações*. 2013. 75 f. Monografia (Graduação em Física) - Instituto de Geociências e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Rio Claro, São Paulo. 2013.

PAIVA, D et al. *Introduction to Organic Laboratory Techniques: A microscale approach*. 4. Ed. Belmont: Thomson 2007, 990 p.

ROWE, RC; SHESKEY, PJ & QUINN, ME. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6ª Ed., London: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2009, 917 p.

SILVERSTEIN, RM; WEBSTER, FX & KIEMLE, DJ. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7ª Ed., EUA: John Wiley & Sons. 2005. 550 p.

WATSON, DG. *Pharmaceutical Analysis: a textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists*. London: Churchill Livingstone, 2005. 382 p.

WHO. *Counterfeit Drugs: Guidelines for the Development of Measures to Combat Counterfeit Drugs*. Genebra: World Health Organization, 1999.

WHO. *Counterfeit medicines: the silent epidemic*. Geneva: World Health Organization, 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr09/en/index.html>>. Acesso em: 08.06.2013.

WHO. *General information on counterfeit medicines*. Geneva: World Health Organization, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/medicines/services/counterfeit/overview/en/>>. Acesso em: 08.06.2013.

WHO. *International medical products anti-counterfeiting taskforce (IMPACT) 2006-2010*. Itália: World Health Organization, 2011. Disponível em: <http://www.who.int/impact/handbook_impact.pdf>. Acesso em: 02.09.2014.

WHO. *Medicamentos espurios, de etiquetado enganoso, falsificados o de imitación*. Nota descritiva N° 275 da World Health Organization, 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs275/es/>>. Acesso em: 03.09.2014.

CAPÍTULO 3 – PERFIL POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA ACOPLADA À
ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CL-EM)

3.1 Introdução e Objetivos

Como relatado nos Capítulos 1 e 2, o comércio ilegal de medicamentos falsificados está fora de controle, a cada dia se expandindo mais por todo o mundo, e técnicas analíticas devem ser desenvolvidas e validadas para uma correta e rápida identificação, quantificação e distinção entre amostras falsificadas e genuínas.

A ausência de uma metodologia analítica em farmacopeias ou formulários oficiais torna obrigatória a validação da mesma, pois a validação é realizada para garantir a credibilidade e segurança dos resultados e, mostrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida (BRASIL, 2003).

O procedimento de validação tem que atender a alguns parâmetros (BRASIL, 2003). O método desenvolvido para análise por cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CL-EM), cuja finalidade é a quantificação de sibutramina e sua aplicação em amostras autênticas e falsificadas, teve que atender aos parâmetros de especificidade, linearidade, intervalo, precisão, exatidão e robustez.

A origem desconhecida dos medicamentos falsificados torna suspeita a qualidade dos mesmos, que apresentam composição incerta (AMES & SOUZA, 2012; GUPTA, SINGHAL & PANDEY, 2012).

A espectrometria de massas (EM) é uma ferramenta analítica de alta sensibilidade, detecção e velocidade, que apresenta uma gama diversa de aplicações, entre elas a identificação de substâncias desconhecidas (BARWICK, 2006; HOFFMAN & STROOBANT, 2007).

No método desenvolvido, o espectrômetro de massas está acoplado a um cromatógrafo a líquido, utilizando ionização por *electrospray* (ESI). Na interface do CL-EM, a amostra é ionizada e introduzida no espectrômetro de massa e sua massa/carga é medida (GROSS, 2004; KATAJAMAA & OREŠIČ, 2005).

A sibutramina possui fórmula e peso molecular, respectivamente, de $C_{17}H_{26}ClN$ e 279,5 g/mol (ACEVES-HERNÁNDEZ et al., 2013). O método para

detecção e quantificação de sibutramina em CL-EM com ESI foi operado com uma fonte de ionização por *electrospray* em modo positivo e os parâmetros foram ajustados para otimizar o íon molecular da sibutramina (280 m/z), realizando-se as análises no modo de Monitoramento Seletivo de Íons (MSI).

O terceiro capítulo tem como objetivo apresentar o desenvolvimento e validação do método de identificação e quantificação de sibutramina por CL-EM e a sua aplicação em amostras autênticas e falsificadas.

Este capítulo será submetido à publicação no periódico *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, com o título “Desenvolvimento e validação de método de CL-EM para sibutramina e aplicação em amostras autênticas e falsificadas.” e se encontra no Anexo I.

3.2 Revisão Bibliográfica

A EM é uma ferramenta analítica indispensável em química, bioquímica, farmácia e medicina. Nenhum estudante, pesquisador ou profissional destas áreas realmente pode passar sem um conhecimento substancial de EM (GROSS, 2004).

A EM tem uma posição de destaque entre os métodos de análise, possuindo características de alta sensibilidade, bons limites de detecção, velocidade e diversidade de aplicação. É utilizada na análise de alimentos, produtos naturais, agentes contaminantes ambientais, ciências forense, monitoramento de processos, medicamentos e metabólitos (HOFFMAN & STROOBANT, 2007). Também é aplicada na confirmação da identidade de compostos conhecidos (por exemplo, compostos de síntese alvo, metabólitos, compostos extraídos a partir de uma amostra matriz) e identificação de desconhecidos (BARWICK, 2006).

É um instrumento que funciona sob vácuo (BARWICK, 2006) e possui como princípio básico a geração de íons de compostos inorgânicos ou orgânicos pelo método mais adequado, para separar estes íons por sua razão

massa/carga (m/z) e detectar qualitativamente e quantitativamente a abundância de suas respectivas m/z (GROSS, 2004).

Em alguns casos, apenas a cromatografia líquida (CL) não consegue fazer uma boa separação dos analitos, pois eles eluem ao mesmo tempo ou em tempos muito próximos. Então, faz-se uso da EM para separá-los de acordo com sua razão m/z . Na interface CL-EM, a amostra é ionizada e introduzida no espectrômetro de massas e sua m/z é medida (KATAJAMAA & OREŠIČ, 2005).

Um dos métodos de ionização mais utilizados é a ESI (KATAJAMAA & OREŠIČ, 2005), que consiste na pulverização da amostra a partir de uma agulha de calibre estreito, na presença de um alto campo elétrico, produzindo pequenas gotículas altamente carregadas, que serão as espécies ionizadas em fase gasosa (BARWICK, 2006).

A validação de procedimentos analíticos tem como objetivo demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos (BRASIL, 2003).

Metodologias analíticas descritas em farmacopeias ou formulários oficiais, reconhecidas pela ANVISA, são consideradas validadas, ou seja, não havendo monografia, o método tem que ser validado para assegurar a confiabilidade dos resultados. No entanto, só serão consideradas validadas as metodologias que atenderem aos parâmetros especificados nas Figuras 30 e 31 (BRASIL, 2003).

Categoria	Finalidade do teste
I	Testes quantitativos para a determinação do princípio ativo em produtos farmacêuticos ou matérias-primas
II	Testes quantitativos ou ensaio limite para a determinação de impurezas e produtos de degradação em produtos farmacêuticos e matérias-primas
III	Testes de performance (por exemplo: dissolução, liberação do ativo)
IV	Testes de identificação

Figura 30. Classificação dos testes, segundo sua finalidade (Fonte: BRASIL, 2003).

Parâmetro	Categoria I	Categoria II		Categoria III	Categoria IV
		Quantitativo	Ensaio limite		
Especificidade	Sim	Sim	Sim	*	Sim
Linearidade	Sim	Sim	Não	*	Não
Intervalo	Sim	Sim	*	*	Não
Precisão Repetibilidade	Sim	Sim	Não	Sim	Não
Intermediária	**	**	Não	**	Não
Limite de detecção	Não	Não	Sim	*	Não
Limite de quantificação	Não	Sim	Não	*	Não
Exatidão	Sim	Sim	*	*	Não
Robustez	Sim	Sim	Sim	Não	Não

Figura 31. Ensaio necessários para a validação do método analítico (Fonte: BRASIL, 2003).

De acordo com a Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos (BRASIL, 2003):

- Especificidade: capacidade que o método possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz.
- Linearidade: capacidade de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado.
- Intervalo: faixa entre os limites de quantificação superior e inferior de um método analítico.
- Precisão: avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. Esta é considerada em três níveis.
- Exatidão: proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro.
- Robustez: medida da capacidade de um método analítico resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos. Indica sua confiança durante o uso normal.

O método para análise de sibutramina se enquadra na Categoria I, cuja finalidade é a quantificação do princípio ativo em produtos farmacêuticos ou matérias-primas. Pertencendo a esta categoria, para ser validado o método teve que atender aos parâmetros de especificidade, linearidade, intervalo, precisão, exatidão e robustez.

A sibutramina, prescrita para o tratamento da obesidade, é um derivado da β -fenetilamina, que apresenta como estrutura básica um anel benzênico e uma cadeia lateral etilamina (Figura 32). O efeito para redução de peso é de responsabilidade da *N*-metilação presente na amina dos derivados fenetilamínicos. Possui um centro esterogênico, resultando na existência de dois enantiômeros. No entanto, é comercializada na forma de racemato, mesmo sendo a forma *R* mais potente e indícios de que a forma *S* e seus metabólitos possam contribuir para efeitos colaterais (MASSONI & SUYENAGA, 2012).

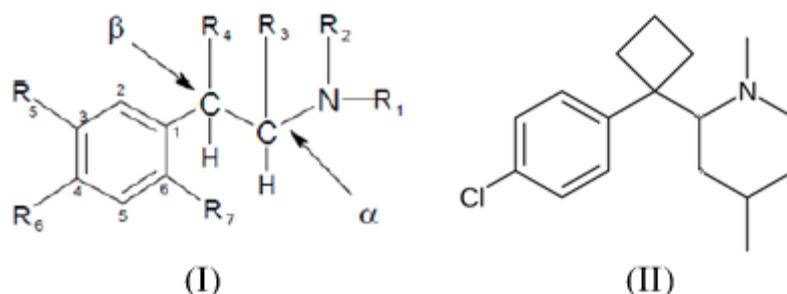


Figura 32. (I) Estrutura química da β -fenetilamina; (II) Estrutura química da sibutramina (Fonte: Massoni & Suyenaga, 2012).

Segundo Massoni e Suyenaga (2012) e Aceves-Hernández e colaboradores (2013), suas propriedades químicas são:

- Denominação química: (\pm) -1- (p-clorofenil) -a-isobutil-N, N-dimetilciclobutano-metilamina.
- Fórmula molecular: $C_{17}H_{26}ClN$
- Peso molecular: 279,5 g/mol
- Solubilidade em água a pH 7,4: 0,04 mg/mL ou fração molar de 3.57×10^{-5} .
- Ponto de fusão: 192,5 °C.

É encontrada, normalmente, na forma de cloridrato de sibutramina monohidratada em formulações comerciais, cujo valor de solubilidade é de 5,2 mg/ml, ou 500 vezes mais solúvel do que a sua base livre (ACEVES-HERNÁNDEZ et al., 2013). Nesta forma, possui fórmula molecular $C_{17}H_{26}ClN \cdot HCl \cdot H_2O$ e peso molecular de 334,33 g/mol (BULA, 2015).

A sibutramina deve ser usada com cautela, pois um dos seus efeitos colaterais é o aumento, de forma relevante, da pressão arterial e da frequência cardíaca (BRASIL, 2011). A presença de efeitos cardiovasculares simpatomiméticos já era previsível, uma vez que a estrutura básica de substâncias β -fenetilamínicas é comum às monoaminas (MASSONI & SUYENAGA, 2012).

Mesmo sendo um medicamento tarja preta, ela é facilmente comprada no comércio ilegal sem a necessidade de receita. No ano passado, 2014, em apenas três intervenções policiais foram encontrados aproximadamente 15 mil cápsulas de sibutramina (G1, 2014a; G1, 2014b; G1, 2014c). E, neste ano, já se tem casos de apreensões (G1, 2015).

A propagação de produtos falsificados se tornou global nos últimos anos e o leque de produtos sujeitos a infração tem aumentado significativamente. A falsificação de medicamentos representa uma ameaça intolerável ao bem-estar do paciente e, torna-se necessário o desenvolvimento de técnicas analíticas para uma rápida detecção de falsificação e distinção entre esses produtos e os produtos originais (TALATI, PARIKH & AGRAWAL, 2011).

3.3 Material e Métodos

3.3.1 Produtos químicos e reagentes

Sibutramina Substância Química de Referência (SQR) foi comprada de *SynFine Research* (Richmond Hill, ON, Canadá).

As amostras autênticas foram compradas em farmácias locais e as falsificadas foram adquiridas no comércio informal.

Todos os solventes eram de grau analítico. Acetonitrila (ACN) *Merck* (Frankfurt, Alemanha), ácido acético, hidróxido de sódio (NaOH) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) Casa da Química (Diadema, SP, Brasil), acetato de amônio Vetec Química (Duque de Caxias, RJ, Brasil) e a água ultrapura Milli-Q Plus (Bedford, MA, EUA) foram utilizados.

3.3.2 Equipamento'

Sistema CL, modelo *Agilent 1260 Infinity*, equipado com bomba quaternária G1311B, amostrador automático G1329B, detector UV/VIS G1314F, termostato G1316A acoplado a um detector de massa *Agilent series 6120B* e *software Chemstation* (v. B.04.03) foram usados. Todos os equipamentos eram da *Agilent Technologies* (Palo Alto, CA, EUA).

3.3.3 Software adicional

Minitab[®] 15.1.20.0. (State College, PA, EUA) foi utilizado para o planejamento fatorial *Plackett-Burman* do teste de robustez.

Testes estatísticos utilizados para a análise de validação e análise das amostras testadas foram realizados utilizando o programa *Microsoft Excel 2010* (Redmond, WA, EUA).

3.3.4 Preparo das soluções

As soluções de sibutramina amostra e SQR foram preparadas diretamente em ACN ou, quando necessário, como no teste de especificidade, foram preparadas em ácido acético 1 M, NaOH 1 M ou H₂O₂ 3%.

Cada amostra analisada por CL-EM era resultante da mistura de suas respectivas cápsulas utilizadas na determinação do peso-médio.

3.3.5 Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (CL-EM)

A separação cromatográfica satisfatória foi alcançada com uma coluna *LiChrospher*[®] 100 RP-18 *LiChroCART*[®] (125 mm × 4,0 mm i.d., 4,0 µm de tamanho de partícula) da *Merck*[®] (Darmstadt, Alemanha) e as condições cromatográficas utilizadas foram:

- Fase móvel (FM): ACN e acetato de amônio 13 mM, pH 6,0, ajustado com ácido acético (85:15);
- Fluxo da FM: 0,8 mL/min em condição isocrática;
- Temperatura da coluna: 35 °C;
- Volume de injeção: 1 µL;
- Tempo de corrida: 12 minutos.

O detector de espectrômetro de massas de estágio simples foi operado com uma fonte de ionização por electrospray em modo positivo (ESI+) e os seguintes parâmetros foram ajustados para pulverizar a câmara: tensão capilar 1000 V, fluxo do gás de secagem (N₂) de 7 L/min, pressão do nebulizador 30 psig e temperatura do gás de secagem de 350 °C. Os parâmetros foram ajustados para otimizar o íon molecular da sibutramina (280 m/z) (Figura 33) e as análises foram realizadas no modo de Monitoramento Seletivo de Íons (MSI).

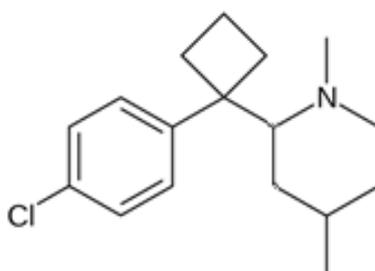


Figura 33. Íon molecular da sibutramina (C₁₇H₂₆ClN – 280 m/z) (Fonte: Massoni & Suyenaga, 2012).

3.3.6 Planejamento fatorial Plackett-Burman para o teste de robustez

Foi realizado para otimizar o tempo e oferecer maior confiabilidade ao método, testado em diferentes condições analíticas. O planejamento fatorial

Plackett-Burman de 2 níveis com 4 fatores e sem replicatas, gerou 12 combinações de corridas variando temperatura da coluna (30-40 °C), pH do acetato de amônio (5,5-6,5), proporção de ACN (80-90%) e fluxo da fase-móvel (0,6-1,0 mL/min).

3.4 Validação

A validação foi realizada seguindo principalmente as diretrizes de validação de procedimentos analíticos da ICH (2005) e o guia de validação de métodos analíticos e bioanalíticos da ANVISA (BRASIL, 2003). Realizaram-se os testes de linearidade, exatidão, precisão, robustez e especificidade, sendo que a amostra A foi empregada na validação do método.

3.4.1 Linearidade

Foram feitas três curvas de calibração de cinco pontos e avaliadas por meio da análise de regressão linear. As curvas analíticas foram preparadas diariamente a partir de cinco soluções (1,0, 3,0, 5,0, 7,0 e 10,0 µg/mL), geradas de uma solução-estoque de sibutramina SQR (20 µg/mL) feita na hora. A linearidade foi avaliada através da análise de repetições para cada nível de calibragem em três dias diferentes, calculando-se as equações das retas e os coeficientes de correlação (r) obtidos através da análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados.

Os critérios para aceitação da curva de calibração são: $r \geq 0,99$ e desvio padrão relativo (DPR) $\leq 5\%$.

3.4.2 Precisão e Exatidão

Para o teste de precisão, durante três dias, foram preparadas sete soluções de 5 µg/mL em ACN, seis soluções de sibutramina amostra (adquirida em farmácia) e uma solução de sibutramina SQR. Já para o teste de exatidão,

prepararam-se, em dois dias diferentes, soluções amostras acrescidas de sibutramina SQR a 25, 60 e 80% em ACN.

A fim de o método ser considerado preciso e exato, o DPR das amostras analisadas não podem exceder 5%.

3.4.3 Robustez

Foram preparadas uma solução amostra e uma solução SQR em ACN na concentração de 5 µg/mL. As soluções foram analisadas, aleatoriamente, nas doze combinações de corridas geradas no planejamento fatorial *Plackett-Burman* (Tabela 5), variando os fatores temperatura da coluna (30-40 °C), pH do acetato de amônio (5,5-6,5), proporção de ACN (80-90%) e fluxo da FM (0,6-1,0 mL/min).

Tabela 5. Corridas geradas no planejamento fatorial *Plackett-Burman*.

Corrida	Temperatura (°C)	pH do acetato de amônio	Proporção da FM	Fluxo (mL/min)
1	40	5,5	90:10	0,6
2	40	5,5	90:10	1,0
3	30	5,5	90:10	1,0
4	30	5,5	80:20	0,6
5	30	5,5	80:20	1,0
6	40	5,5	80:20	0,6
7	30	6,5	90:10	0,6
8	30	6,5	90:10	1,0
9	30	6,5	80:20	0,6
10	40	6,5	80:20	1,0
11	40	6,5	80:20	1,0
12	40	6,5	90:10	0,6

3.4.4 Especificidade

A especificidade do método foi avaliada através de estudos de degradação forçada de sibutramina SQR em condições hidrolíticas (hidrólise ácida e alcalina), oxidativas (H₂O₂ 3%) e fotolíticas (luz UV 254 nm), utilizando como padrão sibutramina SQR (10 µg/mL) preparada em ACN à temperatura ambiente.

Durante 4 horas foram mantidas em estufa a 80 °C duas soluções de sibutramina SQR (1 mg/mL), uma preparada em ácido acético 1 M e outra em NaOH 1 M. Após este período, foi transferido 500 µL de cada solução para béqueres e neutralizadas com NaOH 1 M e ácido acético 1 M, respectivamente, para hidrólise ácida e alcalina, e completadas com ACN para obter concentrações finais de 10 µg/mL.

Para a degradação oxidativa foi preparada solução de sibutramina SQR 1 mg/mL em H₂O₂ 3%, mantida por 4 horas protegida da luz e à temperatura ambiente. Já para a degradação fotolítica foi preparada solução de 1 mg/mL em ACN e transferida para cubeta de quartzo, mantida por 4 horas em luz UV 254 nm. Passadas 4 horas, alíquotas de cada solução foram retiradas e diluídas com ACN a fim de obter concentrações finais de 10 µg/mL.

3.5 Aplicação do método validado em amostras autênticas e falsificadas

As soluções amostras autênticas foram chamadas de A e B e as falsificadas foram nomeadas de C a L. Preparou-se, em ACN, as 12 soluções-amostra (A-L) na concentração de 10 µg/mL. Do mesmo modo foi preparada uma solução de sibutramina SQR para padrão. Todas as soluções foram analisadas em triplicata pelo método previamente validado.

3.6 Resultados e Discussão

O pico da sibutramina amostra A pode ser visto na Figura 34.

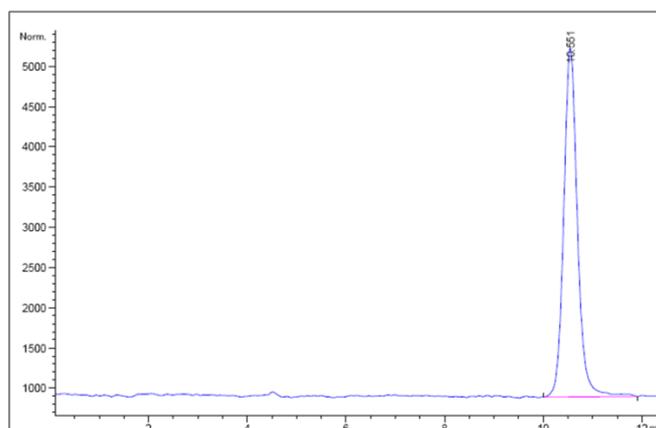


Figura 34. Cromatograma de sibutramina analisada em CL-EM.

As três curvas de calibração estão na Figura 35, cujo coeficiente de correlação (r) médio (n=3) foi de 0,9996, enquanto que a equação da reta média foi $y=117670(\pm 12289)x - 15930(\pm 22674)$ e os resíduos se distribuem aleatoriamente em torno da média zero, ou seja, apresentaram gráficos de resíduos normais e, conseqüentemente, o modelo de regressão linear é adequado. Assim, o método foi considerado linear.

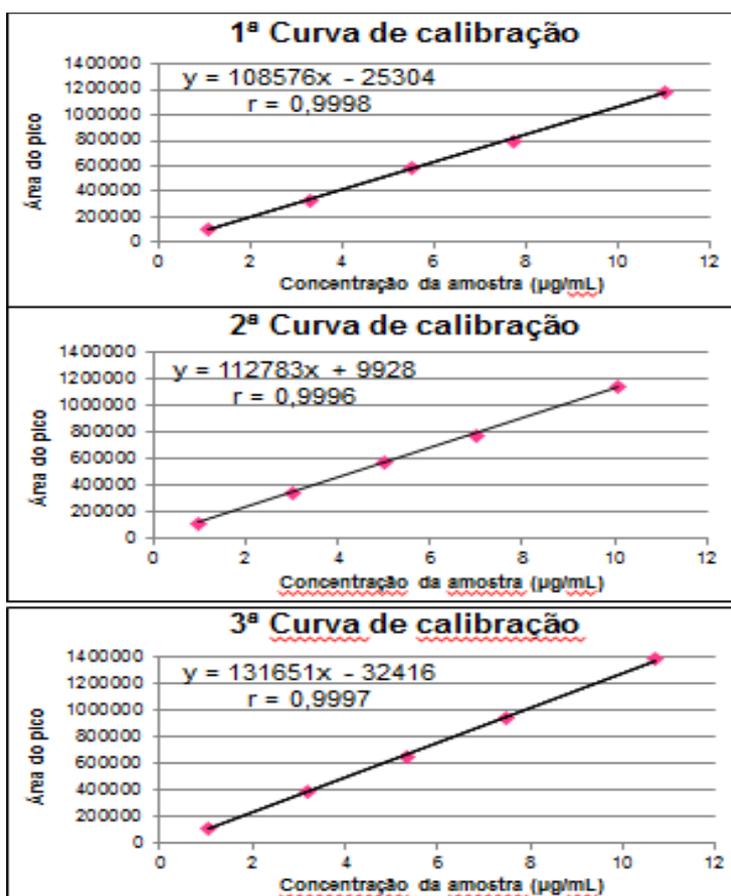


Figura 35. Curvas de calibração do teste de linearidade.

Calcularam-se os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) a partir dos dados obtidos das três curvas padrão de cinco pontos cada, sendo determinados pelas seguintes equações: $LD = (DPa \times 3) / IC$ e $LQ = (DPa \times 10) / IC$. Onde: DPa é o desvio padrão médio do intercepto de três curvas padrão e IC a inclinação média obtida nas três curvas padrão. Sendo que o LD e LQ encontrado foram, respectivamente, 2,31 µg/mL e 7,71 µg/mL.

Os resultados de precisão intra e inter dias são apresentados na Tabela 6 e os dados de exatidão na tabela 7. Como todos os resultados apresentam DPR inferior a 2,0, o método foi considerado preciso e, como o valor

encontrado na análise de exatidão foi próximo de 100% e DPR não passou de 1%, o método foi considerado exato.

Tabela 6. Resultados de precisão para a sibutramina.

	Concentração declarada % (5 µg/mL)						Média	DPR (%)
Dia 1	99,0	103,3	101,7	99,4	99,3	98,9	100,3	1,8
Dia 2	102,1	100,7	99,3	100,2	100,7	100,3	100,6	0,9
Dia 3	100,0	99,5	100,5	99,0	100,7	101,3	100,2	0,8
Média inter-dia (%) (n = 18)							100,3	
DPR (%)								0,2

Tabela 7. Taxa de recuperação (%) de sibutramina.

Adição de sibutramina (%)		25	60	80	Média (%)	DPR (%)
Taxa de Recuperação (%)	Dia 1	98,5	99,0	100,5	99,3	1,0
	Dia 2	100,4	100,0	101,3	100,6	0,6
Taxa de Recuperação inter-dia (%) (n = 6)					99,9	
DPR (%)						0,9

Os resultados dos dias 1 e 2 estão expressos pela média das triplicatas.

No estudo da robustez, utilizando o planejamento fatorial *Plackett-Burman*, analisaram-se as amostras em 12 situações diferentes, conforme a Tabela 5. As análises das amostras foram divididas em 2 dias, os resultados encontrados (Tabela 8) foram semelhantes entre si nos parâmetros investigados e se mantiveram parecidos ao encontrado nas condições cromatográficas validadas.

Os parâmetros encontrados nas condições cromatográficas validadas foram assimetria do pico, número de pratos teóricos, fator de retenção (k') e fator de cauda, respectivamente, 0,77, 6116, 9,17 e 1,39.

No entanto houve variações no tempo de retenção de aproximadamente 7 a 20 minutos, o qual era no método validado em torno de 11 minutos.

Tabela 8. Resultados do estudo de robustez.

Parâmetros	Condições validadas	Médias dos resultados		Entre dias	
		Dia 1	Dia 2	Média	DPR (%)
Teor	-	100,5	107,2	103,8%	4,5
Assimetria do Pico	0,77	0,70	0,71	0,71	1,2
Pratos teóricos	6116	5498,3	6003,3	5750,83	6,2
Fator de (k') ^b	9,17	8,6	9,3	8,94	5,1
Fator De Cauda	1,49	1,5	1,5	1,49	3,2

^aDesvio Padrão Relativo (DPR); ^bFator de retenção (k').

O método apresentou seletividade, pois mesmo nas amostras dos estudos de degradação forçada, o pico manteve o mesmo formato, tempo de retenção e intensidade que a amostra em condições normais (Figura 34).

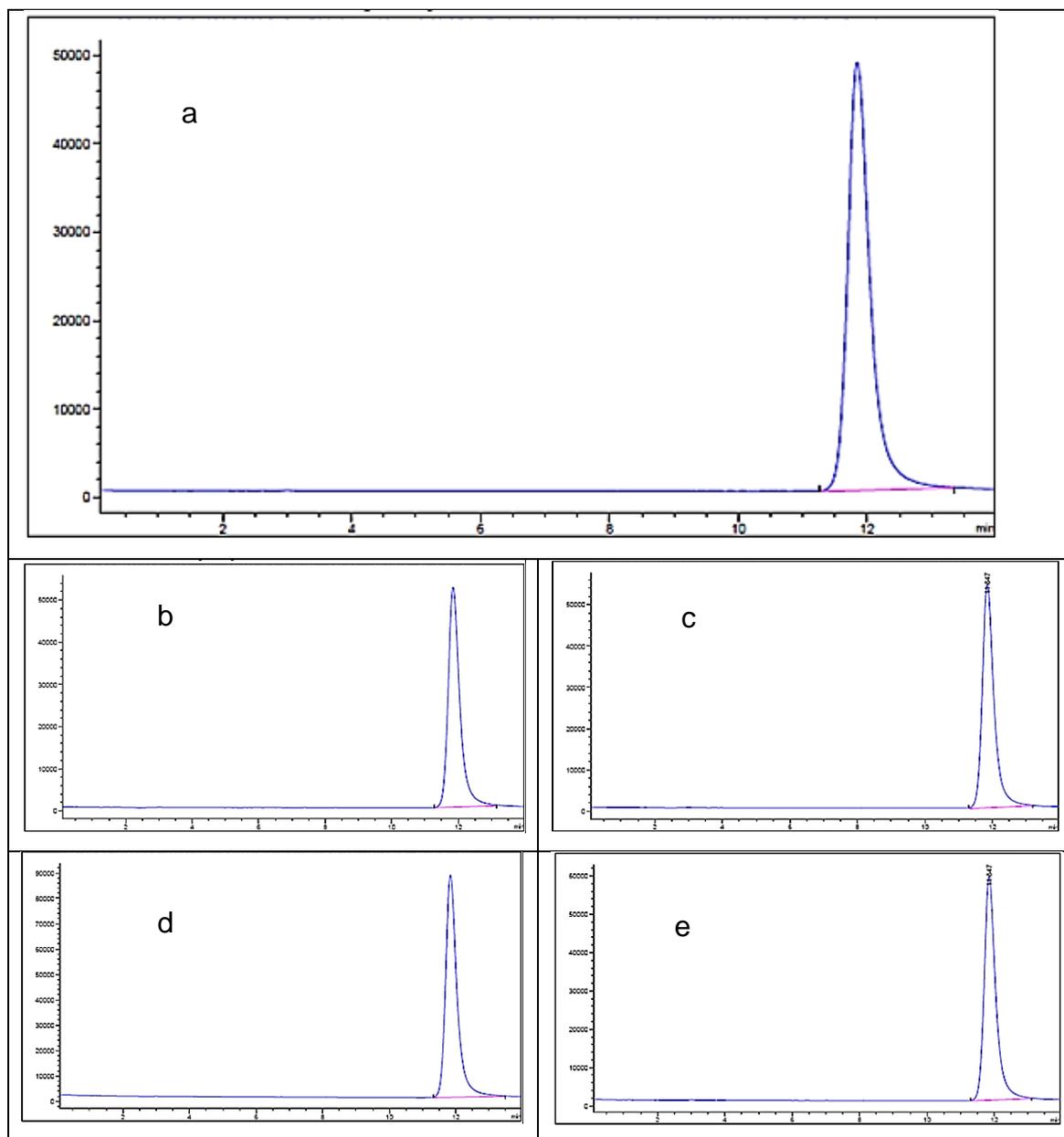


Figura 36. Cromatograma da sibutramina SQR preparada em condições normais (a) e após hidrólise ácida (b), alcalina (c), oxidação (d) e fotólise (e).

O CL-EM é um equipamento muito útil e que não exige muito tempo para o preparo da amostra. Pode fazer a análise de compostos orgânicos e

inorgânicos, de estruturas complexas e em baixas concentrações, bem como pode fazer o monitoramento a partir de um ou mais íons selecionados.

As amostras A-L foram identificadas e quantificadas pelo método anteriormente validado. Não existe monografia para sibutramina na forma farmacêutica cápsula, mas para fins de comparação, neste trabalho, considerou-se a variação de conteúdo empregada na maioria das monografias da Farmacopeia Brasileira (2010), que é de no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110% da concentração teórica declarada.

Como é possível analisar na Tabela 9, a amostra H foi a que apresentou o maior teor de ingrediente farmacêutico ativo (IFA), correspondente a quase 150% do valor declarado. Entretanto, as amostras autênticas e apenas uma das amostras falsificadas (K) estavam dentro dos limites de variação de conteúdo determinados e, entre as que estavam fora dos limites, duas amostras estavam acima e as outras sete abaixo desses.

Tabela 9. Teor de sibutramina^a em amostras autênticas e falsificadas por CL-EM.

Amostra	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
Teor (%)	108,7	105,6	0,3	69,7	11,7	68,3	36,4	142,8	127,5	88,3	96,2	47,2
DP^b	0,96	0,56	0,01	0,89	0,04	0,50	0,44	0,57	1,27	1,72	0,07	0,66

^an=3; ^bDesvio Padrão (DP).

Essa discrepância nos resultados faz intensificar uma preocupação já existente, mas nem sempre avaliada e divulgada, que é a qualidade dos medicamentos obtidos de fontes duvidosas. Muitas vezes essa qualidade incerta pode resultar em falha do tratamento ou mesmo levar a uma intoxicação do paciente (GUPTA, SINGHAL & PANDEY, 2012).

No entanto, não é apenas a inexistência ou baixa concentração de IFA que preocupa, a ingestão de alta concentração de um princípio ativo potencializa seus efeitos adversos, podendo fazê-los aparecerem. Além disso, o fato de não saber o que está tomando e muito menos a dosagem, pode ocasionar interações medicamentosas e mascarar os sinais clínicos que permitiriam os cuidados adequados, agravando condições de saúde e prolongando o tempo de tratamento.

3.7 Conclusão

O método desenvolvido e validado para análise de sibutramina em CL-EM apresentou linearidade, exatidão, precisão, especificidade e robustez adequadas. Foi empregado para identificar e quantificar as amostras, que de doze amostras, apenas três tiveram resultados satisfatórios (A, B e K) e, as demais não apresentaram IFA em quantidades permitidas. A falsificação de medicamentos é um problema de saúde pública que precisa ser combatido. O resultado deste trabalho reforça a necessidade de mais pesquisas e divulgação a fim de identificar, quantificar e distinguir amostras falsificadas de autênticas.

3.8 Referências Bibliográficas

ACEVES-HERNÁNDEZ, JM et al. Sibutramine characterization and solubility, a theoretical study. *Journal of Molecular Structure*, Alemanha, vol. 1038, pág. 163–169, 2013.

AMES, J & SOUZA, DZ. Falsificação de medicamentos no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, vol. 46, nº 1, pág. 154-159, 2012.

BARWICK, V et al. Best Practice Guide for Generating Mass Spectra. *Setting standards in analytical science*, 2006.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 52, de 06 de outubro de 2011. Dispõe sobre a proibição do uso das substâncias anfepramona, femproporex e mazindol, seus sais e isômeros, bem como intermediários e medidas de controle da prescrição e dispensação de medicamentos que contenham a substância sibutramina, seus sais e isômeros, bem como intermediários e dá outras providências. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/dd91710048acfdab5b2b7e2d0c98834/RDC_52_2011_10_de_outubro_de_2011.pdf?MOD=AJPERES>.

Acesso em: 06.04.2015.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/4983b0004745975da005f43fbc4c6735/RE_899_2003_Determina+a+publica%C3%A7%C3%A3o+do+Guia+para+valida%C3%A7%C3%A3o+de+m%C3%A9todos+anal%C3%ADticos+e+bioanal%C3%ADticos.pdf?MOD=AJPERES>. Acesso em: 07.04.15.

BULA, Sibutramina. 2015 Disponível em:

<<http://www.medicinanet.com.br/bula/4701/sibutramina.htm>>. Acesso em: 01.07.2015.

ICH, Conferência Internacional sobre Harmonização dos Requisitos Técnicos para o Registo de Medicamentos de Uso Humano - Diretrizes Tripartido Harmonizados: Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology, Q2(R1), 2005. Disponível em:

<http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf>. Acesso em: 09.06.2014.

F. Bras. 2010. *Farmacopeia Brasileira*. 5 ed., vol. 2., Brasília: Anvisa, 2010.

G1 2014a. Polícia apreende 4 mil comprimidos de sibutramina em Rio Preto, SP. G1, 22.01.2014. Disponível em: <<http://g1.globo.com/sao-paulo/sao-jose-do-rio-preto-aracatuba/noticia/2014/01/policia-apreende-4-mil-comprimidos-de-sibutramina-em-rio-preto-sp.html>>. Acesso em: 06.04.2015.

G1 2014b. Polícia Civil prende grupo que vendia remédios controlados pela internet. G1, 27.11.2014. Disponível em: <<http://g1.globo.com/sao-paulo/sorocaba-jundiai/noticia/2014/11/policia-civil-prende-grupo-que-vendia-remedios-controlados-pela-internet.html>>. Acesso em: 06.04.2015.

G1 2014c. Remédios para inibição de apetite e disfunção erétil são apreendidos. G1, 24.09.2014. Disponível em: <<http://g1.globo.com/bahia/noticia/2014/09/remedios-para-inibicao-de-apetite-e-disfuncao-eretil-sao-apreendidos-na-ba.html>>. Acesso em: 06.04.2015.

G1 2015. Motorista é flagrado com mais de 37 mil medicamentos proibidos na Bahia. G1, 12.03.2015. Disponível: <<http://g1.globo.com/bahia/noticia/2015/03/motorista-e-flagrado-com-mais-de-37-mil-medicamentos-proibidos-na-bahia.html>>. Acesso em: 07.04.2015.

GROSS, JH. *Mass Spectrometry: A Textbook*. Alemanha: Springer, 2004. 534 f.

GUPTA, P; SINGHAL, K & PANDEY, A. Counterfeit (fake) drugs & new technologies to identify it in India. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, India, vol. 3, nº 11, pág. 4057-4064, 2012.

HOFFMANN, E & STROOBANT, V. *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. 3 ed. Chichester: Wiley-Interscience, 2007.

KATAJAMAA, M & OREŠIČ, M. Processing methods for differential analysis of LC/MS profile data. *BMC Bioinformatics*, Inglaterra, vol. 6, pág. 179, 2005.

MASSONI, T & SUYENAGA, ES. Sibutramina sob a óptica da química medicinal. *Revista Eletrônica de Farmácia*, Goiás, vol. IX, nº 4, pág. 59-68, 2012.

TALATI, R; PARIKH, S & AGRAWAL, YK. Pharmaceutical Counterfeiting and Analytical Authentication. *Current Pharmaceutical Analysis*, Emirados Árabes Unidos, vol. 7, pág. 54-61, 2011.

DISCUSSÃO GERAL

A primeira etapa deste trabalho foi a aquisição das amostras e a elaboração de um perfil físico para elas. Quanto à aquisição das amostras falsificadas, não houve empecilhos para comprá-las ou necessidade de receita e em nenhum momento os vendedores questionaram o motivo da compra ou forneceram alguma orientação e advertência a respeito do medicamento.

A maior parte das amostras foi adquirida pela *internet* e entregue via correio. Nenhuma das amostras falsificadas veio em caixas e com bulas ou com algum folheto informativo. Algumas foram entregues em envelopes, outras enroladas em plásticos-bolha por um elástico ou em folhas de papel, de forma totalmente insegura, suja e improvisada.

O preço da sibutramina no mercado ilegal varia de acordo com o fornecedor, mas todos chegam a ser quase o dobro do valor das farmácias e alguns a quase o triplo do mesmo.

Poucas amostras vieram em blisters. Com exceção das adquiridas no comércio formal, somente 4 estavam em blisters, mas nenhum destes estavam completos em relação às informações exigidas pela legislação.

Quanto às cápsulas, quando fechadas, todas estavam íntegras, limpas e possuíam tamanhos proporcionais à dosagem, exceto a amostra C que apresentou irregularidade em uma das suas cápsulas. Seis cápsulas apresentaram alguma irregularidade, uma da amostra C estava furada na parte lateral da tampa, antes mesmo de ser aberta e outras duas se rasgaram durante o processo de abertura. Uma tampa da cápsula da amostra D e outra da amostra J foram quebradas ao tentar abri-las. A amostra E tinha uma cápsula um pouco amassada. As demais cápsulas estavam em bom estado.

Tratando-se das cores, as amostras G e L eram cápsulas transparentes na cor azul claro, as amostras C, H e K eram da cor bordô e representavam metade das amostras falsificadas analisadas. As outras cinco amostras tiveram cores diferentes.

Comparando os pós das amostras foi possível verificar divergências entre eles e agrupá-los em três grupos de acordo com o aspecto (cristalino, granulado, pó seco ou pó úmido), a adesão (grosso ou fino, dispersivo, volátil

ou firme) e a coloração (cor propriamente dita e se era homogênea ou heterogênea). A única característica em comum a todos os pós das diferentes amostras foi a cor branca e homogênea.

O peso médio, DPR e os limites de variação das cápsulas de cada amostra foram determinados. Exceto a amostra F, que teve peso médio igual a 369,5 mg e limite de variação de variação de peso tolerado de $\pm 7,5\%$, todas as demais pesaram menos que 300 mg e, por isso, possuíam limite de variação de $\pm 10,0\%$. Assim, o peso das amostras variou de 149,7 mg a 369,5 mg.

No máximo duas unidades de um total de vinte podem estar fora dos limites de variação (F. Bras., 2010). A amostra D e H tiveram, cada uma, uma cápsula acima do limite superior e outra abaixo do limite inferior, enquanto que a amostra E teve duas unidades acima do limite superior e uma abaixo do limite inferior. Considerando que no máximo dez cápsulas foram avaliadas, apenas a amostra E foi reprovada no peso médio, mas a amostra H certamente também seria reprovada, visto que foram analisadas apenas seis cápsulas e, destas, suas estavam fora dos limites de variação de PM.

A falsificação ou uma origem comum a elas não pode ser confirmada apenas por testes de determinação de peso médio, da dosagem, e da avaliação das cápsulas, dos pós e blisters, ou seja, o perfil físico não pode atestar uma falsificação, mas pode ser um forte indicativo.

Nessa tentativa de aferir uma falsificação e até mesmo orientar e completar as próximas análises (CL-EM e espectroscopia de IV) as amostras foram agrupadas conforme as características encontradas nos seus perfis físicos, ou seja, de acordo com as doses, propriedades dos pós, cor das cápsulas e determinações dos pesos médios. Isto revelou que duas amostras (G e L) possuíam as mesmas características. Isso também aconteceu com as amostras H e K e, igualmente com as amostras I e J. As demais amostras possuíam alguma semelhança, mas não eram totalmente iguais.

Todas as amostras foram analisadas em espectroscopia de IV na faixa espectral compreendida entre 4000 a 400 cm^{-1} e apresentaram uma banda alargada característica de grupamento OH, na região de 3300 cm^{-1} , o que

interferiu na identificação da ligação N-H em algumas amostras. Essa banda é resultado da umidade ou dos excipientes que as amostras possuíam, como por exemplo, a lactose monoidratada ou o amido glicolato de sódio. Metade das amostras (B, C, D, E, G e L) apresentou banda correspondente ao grupamento COO-, que pode ser do excipiente estearato de magnésio e todas as amostras apresentaram banda equivalente ao do grupamento SiO do excipiente dióxido de silício.

Todas as amostras apresentaram bandas entre 1000-1260 cm^{-1} , que pode ser do grupamento C-O, no entanto, essa banda também pode corresponder ao grupamento C-N, presente na estrutura química de sibutramina, pois a banda C-N pode ser encontrada na região entre 1020-1250 cm^{-1} (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2005). No entanto, apenas com a análise dos espectros não foi possível afirmar a qual grupamento pertence aquela banda, ou se ambas as bandas estão sobrepostas.

A banda C-O que poderia ser justificada pela presença do excipiente celulose microcristalina ou amido glicolato de sódio, que possuem ligações do tipo C-O em sua estrutura molecular (ROWE, SHESKEY & QUINN, 2012).

As amostras C, D e E não apresentaram em seus espectros de IV a banda de N-H, presente nos espectros das demais amostras. Essas amostras e a amostra H também não apresentaram a banda correspondente ao grupamento clorobenzeno, que seria na região de 1096-1089 cm^{-1} (SILVERSTEIN, WEBSTER & KIEMLE, 2005), característica de sibutramina. Logo, não se pode confirmar que estas amostras possuem sibutramina.

No entanto, a amostra H apresentou o maior teor encontrado na análise de conteúdo por CL-EM. Já a amostra C apresentou 0,3% de IFA, ou seja, não apresentou sibutramina em sua composição.

As amostras C, D e E apresentaram características idênticas nos perfis físicos e nos espectros de IV, com exceção que nos espectros de IV houve variações nas intensidades das bandas das amostras. Essas variações foram diretamente proporcionais às quantidades de conteúdos encontrados na análise por CL-EM, sendo que a amostra D possuiu a maior concentração entre

as três amostras e a amostra C a menor. Porém, demonstraram possuir baixos teores de sibutramina nas análises por CL-EM e não apresentaram indícios da presença do grupamento R_3NH^+ nos espectros de IV. Contudo, a amostra D apresentou quase 70% de conteúdo de ingrediente farmacêutico ativo (IFA), sugerindo que dessas 3 amostras (C, D e E), pelo menos a amostra D possuía sibutramina.

Logo, apenas através da inspeção visual dos espectros e da comparação com tabelas encontradas na literatura não foi possível confirmar a presença de sibutramina nas amostras C, D, E e H sem o auxílio de outros métodos para isto. Entretanto, as outras 8 amostras apresentaram bandas nas regiões características dos grupamentos químicos da sibutramina.

Como os espectros apresentaram perfis de absorção e contorno das bandas diferenciadas foi possível sugerir a divisão das amostras em três grupos por similaridade e, conseqüentemente, inferir uma origem semelhante das amostras, exceto para a amostra H que não se encaixou em nenhum dos grupos. Sendo que os grupos eram compostos por amostras A, B, F, I, J e K; amostras C, D e E e amostras G e L.

O método de análise da sibutramina por CL-EM e sua aplicação em amostras de origem suspeita e em amostras adquiridas no comércio formal foi validado. O método se mostrou linear (r 0,9996), preciso ($100,3 \pm 0,2\%$), exato ($99,9 \pm 0,9\%$) e robusto às variações determinadas pelo desenho fatorial *Plackett-Burman* (temperatura da coluna (30-40 °C), pH do acetato de amônio (5,5-6,5), proporção de ACN (80-90%) e fluxo da fase-móvel (0,6-1,0 mL/min)).

Quando empregado sob estudos de degradação forçada de sibutramina SQR em condições hidrolíticas (hidrólise ácida e alcalina), oxidativas (H_2O_2 3%) e fotolíticas (luz UV 254 nm), nenhum pico extra foi observado e o pico do analito (280 m/z) não apresentou nenhuma alteração de forma, somente de intensidade, sugerindo boa especificidade do método, o que é esperado para CL-EM.

Após a validação, realizou-se a análise por CL-EM das amostras autênticas (A e B) e de origens desconhecidas, cujos cromatogramas estão nas Figuras 36 e 37.

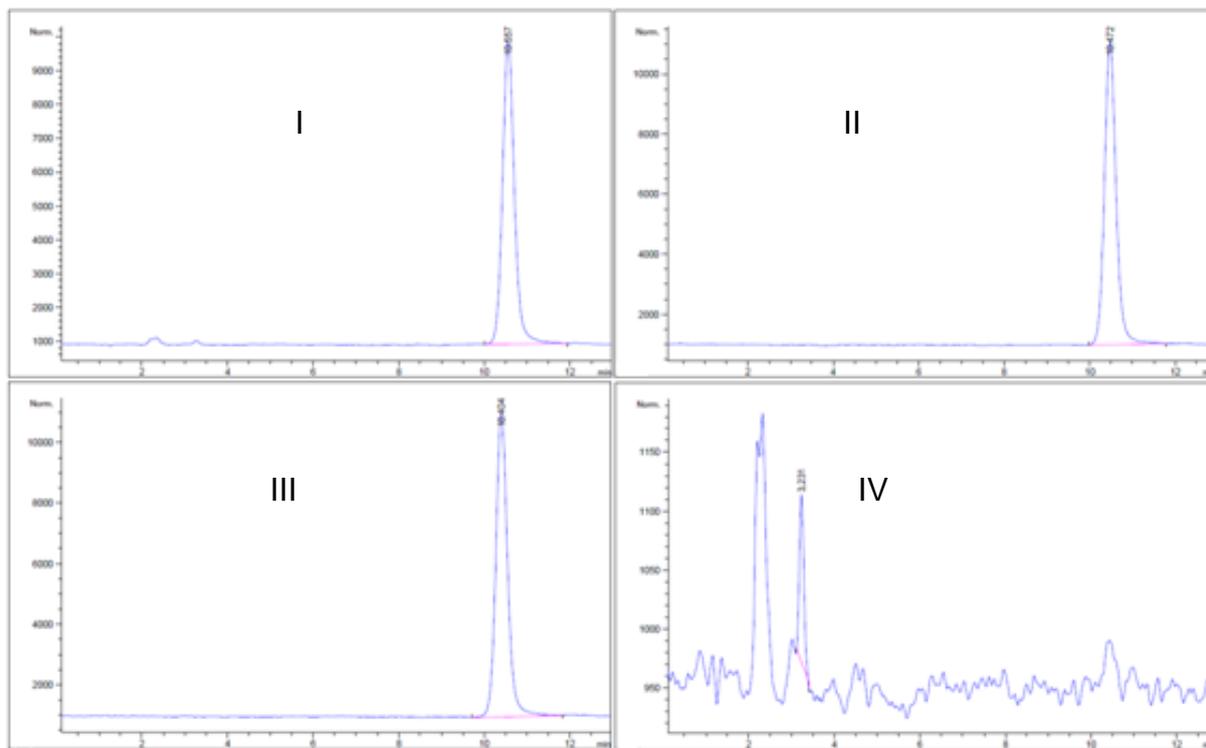


Figura 37. Cromatogramas: (I) Padrão SQR de sibutramina; (II) Amostra A; (III) Amostra B e (IV) Amostra C.

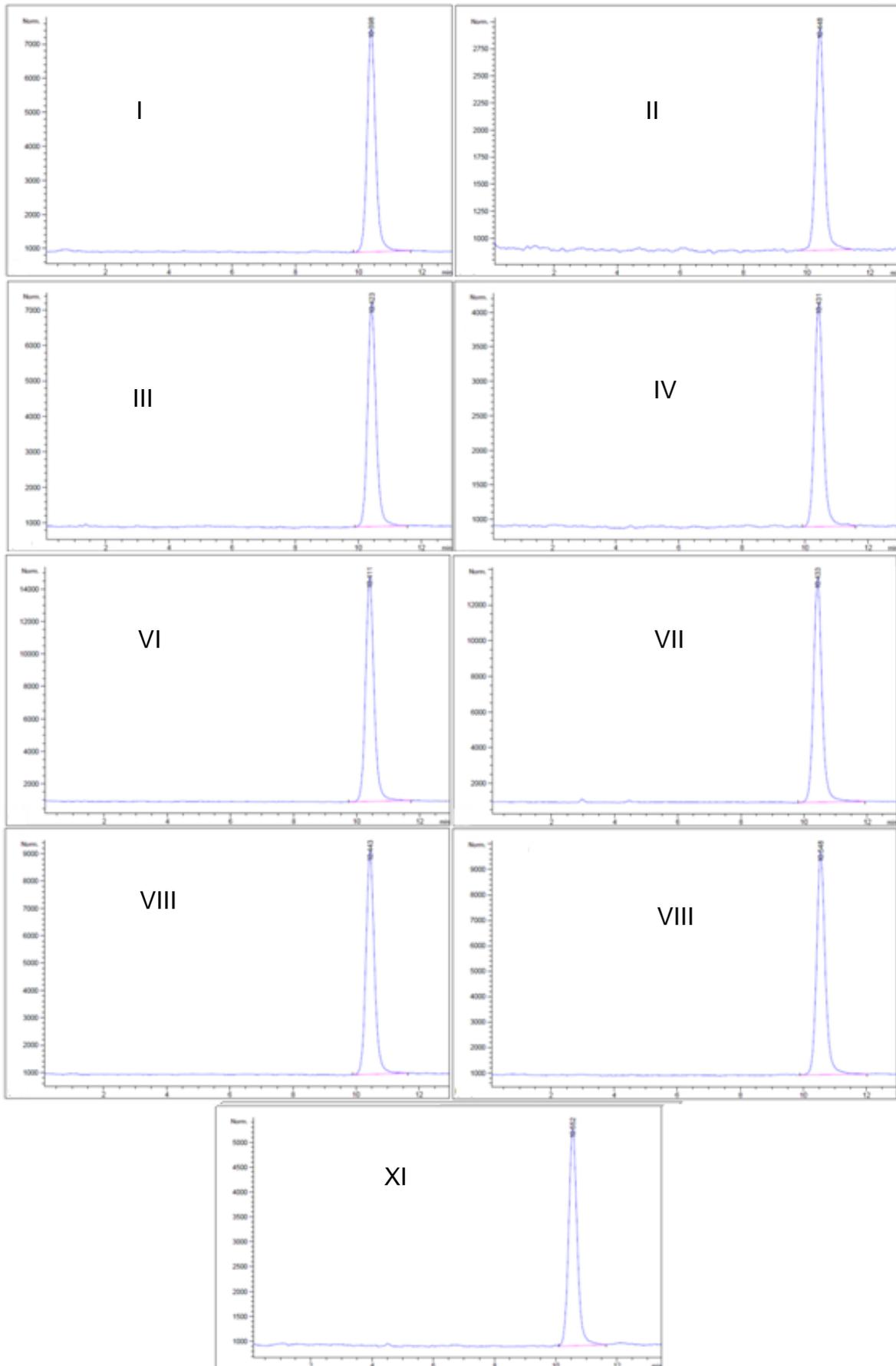


Figura 38. (I) Amostra D; (II) Amostra E; (III) Amostra F; (IV) Amostra G. (V) Amostra H; (VI) Amostra I; (VII) Amostra J; (VIII) Amostra K; (IX) Amostra L.

Todos os cromatogramas apresentaram tempo de retenção e assimetria dos picos semelhantes, exceto a amostra C. O tempo de retenção foi de aproximadamente 11 minutos.

O limite de variação de conteúdo empregado na maioria das monografias da Farmacopeia Brasileira (2010) é de no mínimo 90,0% e no máximo 110% da concentração teórica declarada, portanto, considerou-se esse como o limite de variação permitido para sibutramina, visto que ela não possui monografia na sua forma farmacêutica cápsula.

Em relação aos teores, somente as amostras A ($108,7 \pm 0,96\%$) e B ($105,6 \pm 0,56\%$) estavam dentro do limite máximo de variação permitido. Quatro amostras (C, E, G e L) apresentaram valores inferiores a 50% do valor declarado, sendo que o teor de C foi quase zero. As amostras D e F apresentaram valores próximos a 70% e as amostras H e I apresentaram valores acima do limite máximo.

Assim como no perfil físico e na espectroscopia de IV, na identificação e quantificação por CL-EM as amostras G ($36,4 \pm 0,44\%$) e L ($47,2 \pm 0,66\%$) também apresentaram resultados próximos, mas inferior aos limites permitidos, sugerindo que elas possam pertencer a uma mesma origem. No entanto, as concentrações das amostras I e J não puderam ser correlacionadas, não podendo inferir o mesmo que no aspecto físico e na espectroscopia de IV.

Das amostras, D e F foram as que apresentaram teores mais parecidos, respectivamente, $69,7 \pm 0,89\%$ e $68,3 \pm 0,50\%$, mas ambas também abaixo do limite mínimo permitido. Já as amostras H e C foram as que apresentaram, respectivamente, o maior ($142,8 \pm 0,57\%$) e menor ($0,3 \pm 0,01\%$) teor de sibutramina.

Essa diferença nos resultados reforça que medicamentos de origem duvidosa possuem qualidade incerta e, muitas vezes, essa qualidade incerta pode resultar em potencialização de efeitos adversos, interações medicamentosas, prolongamento e falha do tratamento, mascaramento dos sinais clínicos e contribuição para aumento de resistência ou mesmo

agravamento das condições de saúde, podendo levar o paciente a uma intoxicação ou mesmo ao óbito.

Na Tabela 10 sugerem-se grupos por similaridade dos resultados nos testes realizados para o perfil físico (características dos pós, cor das cápsulas, pesos-médio e dosagem), as análises dos espectros de IV (intensidades e contornos das bandas) e o teor encontrado por CL-EM.

Tabela 10. Agrupamento das amostras segundo resultados nos perfis físicos e na espectroscopia de IV.

Testes		Grupos								
Perfil físico	Espectroscopia de IV	A, B, F, I, J e K	C, D e E	G e L	H					
	Características dos pós	A, B, F, H e K	C, D, E, I e J	G e L						
	Cor das cápsulas	A	B	C, H, I, J e K	D	E	F	G e L		
	Pesos-médio	A e C	B	D e E	F	G e L	H e K	I e J		
	Dose	A, B, G e L	C, D, E, F, H, I, J e K							
	Comum nos 4 aspectos anteriores	G e L	H e K	I e J						
CL-EM	A e B	C	D e F	E	G e L	H	I	J e K		

Além de serem as únicas amostras que estavam dentro dos limites de variações permitidos para o conteúdo das cápsulas, as amostras A, B e K apresentaram características semelhantes nos espectros de IV e nos pós, mas apenas isso não é o suficiente para inferir que essas amostras possam pertencer a uma mesma linha de produção.

As amostras A e B são vendidas no comércio formal brasileiro e K no informal do Paraguai. A amostra F também apresentou características dos pós e do espectro de IV semelhantes a essas amostras, mas teve um baixo teor na análise de conteúdo e esta foi importada da Espanha (informação dada pelo vendedor).

As análises sugerem que os pós das amostras I e J foram produzidos da mesma maneira que A, B, F e K, mas possuíam componentes nas formulações que tornaram as características dos seus pós semelhantes, mas diferentes das demais amostras. Além disso, ambas as amostras não continham caixas,

blisters e bulas, mas apresentaram cápsulas na cor bordô, peso-médio e dosagem, teoricamente, semelhantes. Logo, provavelmente as amostras I e J pertençam aos mesmos locais, mas não foram produzidas adequadamente, visto que apresentaram teores diferentes e abaixo dos limites permitidos.

Já as amostras C, D e E apresentaram as mesmas características nos pós e seus espectros de IV se sobrepuseram, e isso pode ser um indício que seus pós vieram de um mesmo lugar, mas seguiram caminhos diferentes até chegarem aos consumidores. Os resultados dessas amostras reforçaram uma preocupação já existente que é o conteúdo das cápsulas adquiridas no mercado informal, pois tanto a amostra D como a E possuíam cápsulas acima e abaixo dos limites de variação aceitável e as três amostras apresentaram baixos teores de IFA, sendo que a amostra C foi a que apresentou o menor teor entre as doze amostras pesquisadas.

Na análise de espectroscopia de IV foi possível identificar quatro padrões de espectros diferentes e assim agruparam-se as amostras. Porém, a amostra H apresentou um espectro de IV com delineamentos de bandas diferentes das demais amostras, ou seja, possuía um padrão único e por isso não pôde ser agrupada com nenhuma outra amostra.

Possuir cápsulas idênticas, doses iguais e teores inferiores ao esperado não foi o suficiente para afirmar que as amostras H, I, J e C eram provenientes de um mesmo falsificador que adquiriu os pós de diferentes origens, até porque I e J possuíam um peso-médio semelhantes, enquanto que C e H apresentaram, respectivamente, o teor mais baixo e mais alto, revelando um descuido ainda maior nos seus preparos, demonstrando que as quatro amostras não foram pesadas no mesmo local.

As amostras G e L tiveram apenas a dose em comum com algumas outras amostras. Os seus resultados em todos os testes para elaborar o perfil físico, nas análises de espectroscopia de IV e na semelhança dos resultados na análise por CL-EM sugerem que essas amostras sejam iguais, mas vendidas por pessoas diferentes e, pela variação de teor, sejam de lotes diferentes. No entanto, ambas não tinham rótulos e nenhuma identificação que

embasasse isto e não foi possível confirmar apenas com as análises realizadas.

A WHO (1999) definiu medicamentos falsificados como *“produtos farmacêuticos que foram rotulados de forma errônea – deliberada e fraudulentamente – no que diz respeito à identidade e/ou à origem”*.

Portanto, das doze amostras analisadas, dez eram falsificadas e as amostras A e B eram autênticas. Além das autênticas, somente a amostra K apresentou teores dentro do esperado e houve indícios que a amostra K possa ser da mesma origem que A e B, mas que foi contrabandeada para o Brasil e vendida no comércio ilegal.

Este trabalho sugere que existem quatro potenciais origens dos conteúdos das cápsulas analisadas, os quais alguns se desvirtuam e tornaram-se medicamentos falsificados com diferentes distribuidores e vias de comércio atuando também no Brasil.

A Figura 39 representa um esquema geral da TENTATIVA de agrupar as amostras, inferindo possíveis origens comuns à elas. Esse esquema é o resultado da junção, por similaridade de resultados, de todas as análises e avaliações feitas neste trabalho. Contudo, apenas as amostras G e L, H e I apresentaram resultados parecidos em todas as análises, sendo os únicos grupos que se podem sugerir uma possível origem comum.

Todos os objetivos propostos foram alcançados, detectaram-se falsificações e agruparam-se as amostras com propriedades semelhantes, a partir da análise em espectrômetro de IV, em CL-EM e das características físicas das amostras.

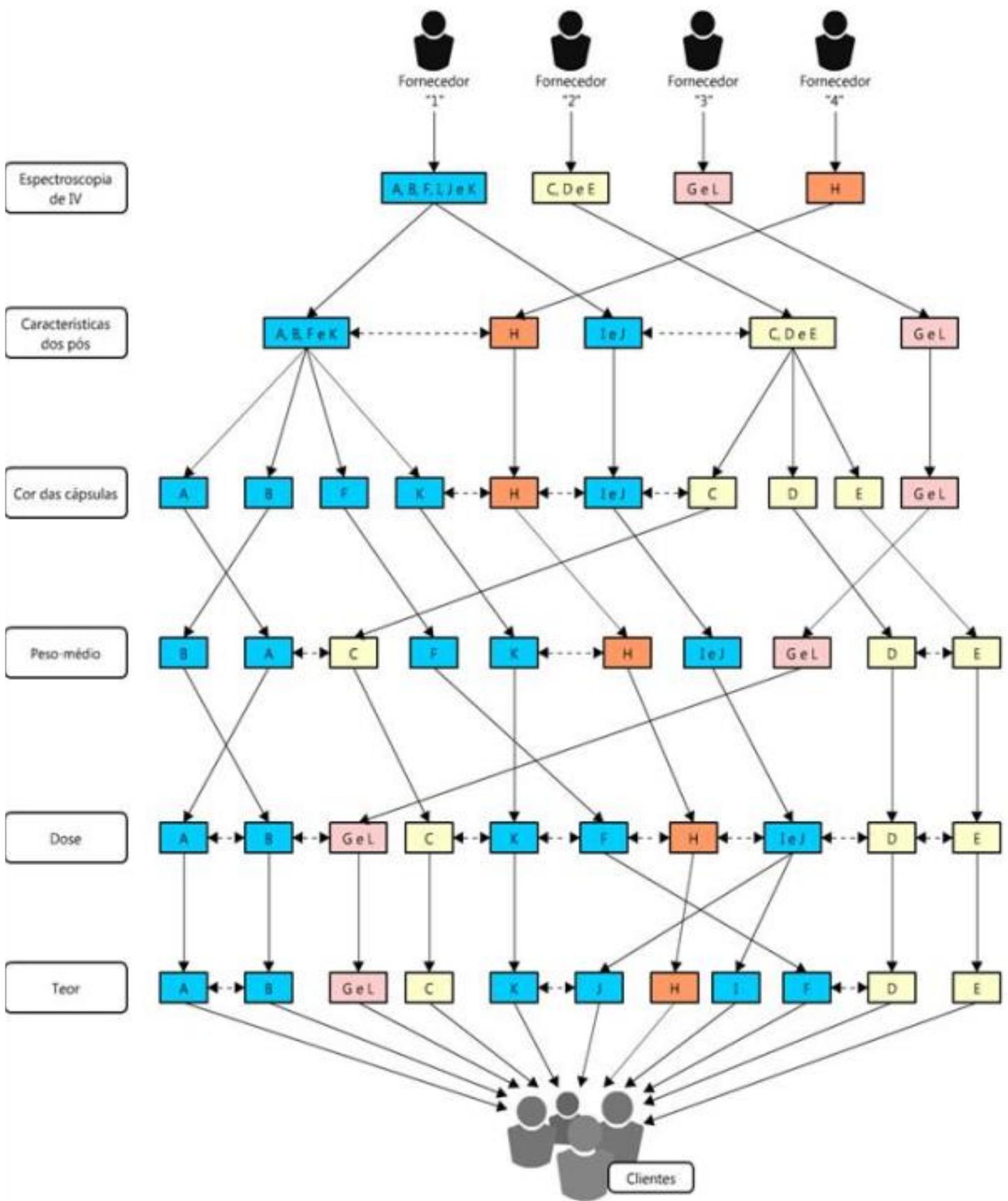


Figura 39. Esquema geral do agrupamento por similaridade nos resultados das amostras.

CONCLUSÕES

- As características físicas das amostras de sibutramina, principalmente das que continham blisters, foram úteis para identificar as falsificações;
- Identificaram-se as principais bandas dos espectros de IV das amostras e de sibutramina SQR. No entanto, através da observação simples dos espectros de IV não foi possível caracterizar as falsificações;
- O método desenvolvido por CL-EM para a identificação e quantificação da sibutramina foi validado, demonstrando ser seletivo, linear, exato, preciso e robusto;
- O método desenvolvido foi aplicado nas análises das amostras de sibutramina de diferentes origens, onde foi observada grande diferença de teor nas amostras falsificadas;
- Com os testes realizados não foi possível confirmar se as amostras possuíam origens semelhantes.

PERSPECTIVAS

Até o momento só foi possível sugerir a existência de diversas origens do conteúdo das cápsulas. Entretanto, a fim de comprovação dessas origens, análises mais aprofundadas estão em andamento, como a Análise de Componentes Principais (ACP) na impressão digital dos espectros de IV, que é aplicada como técnica exploratória para evidenciar a estruturação dos dados, a existências de *outliers* e de *clusters*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMES, J; SOUZA, DZ. Falsificação de medicamentos no Brasil. *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, vol. 46, nº 1, pág. 154-159, 2012.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Operação apreende medicamentos na fronteira com o Paraguai. Brasília, 2 de abril de 2009. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2009/020409_3.htm>. Acesso em: 08.06.2013.

BRASIL, Secretário de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Portaria nº 344, de 13 de maio de 1998. Aprova o Regulamento Técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Disponível em: <http://www.saude.se.gov.br/userfiles/Portaria_344_98-.pdf>. Acesso em: 22.06.2013.

CARVALHO, AC. O impacto negativo da pirataria no cenário mercadológico e as dificuldades no combate a falsificação. *Revista do IBRAC*, Rio de Janeiro, vol. 12, nº 3, pág. 47-84, 2006.

DÉGARDINA, K; ROGGOA, Y & MARGOT, P. Understanding and fighting the medicine counterfeit market. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Inglaterra, vol. 87, pág. 167-175, 2014.

European Alliance for Access to Safe Medicines (EAASM). The Counterfeiting Superhighway. Medicom Group Ltd., Hampton Court, UK, 2008. Disponível em: <http://v35.pixelcms.com/ams/assets/312296678531/455_EAASM_counterfeitinq%20report_020608.pdf>. Acesso em: 01.04.15.

F. Bras. 2010. *Farmacopeia Brasileira*. 5 ed., vol. 2., Brasília: Anvisa, 2010.

FARIA, GE. *Pirataria e falsificação de medicamentos*. Sociedade Latino-americana de Medicina Sexual – SIS.SAÚDE – Sistema Integrado de Saúde do RS – Brasil, 2009. Disponível em: <http://www.sissaude.com.br/sissaude/userfiles/pirataria_medicamentos_gerald_o_eduardo_faria.pdf>. Acesso em: 09.06.2013.

FERNANDEZ, FM; GREEN, MD & NEWTON, PN. Prevalence and detection of counterfeit pharmaceuticals: a mini review. *Industrial & engineering chemistry research*, Estados Unidos, vol. 47, pág. 585-590, 2008.

GAUDIANO, MC et al. Development and validation of a reversed-phase LC method for analysing potentially counterfeit antimalarial medicines. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, Inglaterra, vol. 42, pág. 132-135, 2006.

GUPTA, P; SINGHAL, K & PANDEY, A. Counterfeit (fake) drugs & new technologies to identify it in India. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, India, vol. 3, nº 11, pág. 4057-4064, 2012.

LOPES, WA; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. *Química Nova*, São Paulo, vol. 27, nº 4, pág. 670-673, 2004.

NEWTON, PN. et al. A collaborative epidemiological investigation into the criminal fake artesunate trade in South East Asia. *PLOS Medicine*, Estados Unidos, vol. 5, pág. 209-219, 2008.

ROWE, RC; SHESKEY, PJ & QUINN, ME. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 6ª Ed., London: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2009, 917 p.

PARTNERSHIP for Safe Medicines, Counterfeit Drug Incident Encyclopedia, Partnership for Safe Medicines, Vienna, VA. Disponível em: <<http://www.safemedicines.org/counterfeit-drug-incident-encyclopedia.html>> Acesso em: 01.04.15.

REYNOLDS, L & MCKEE, M. Organized crime and the efforts to combat it: a concern for public health. *Globalization and Health*, Inglaterra, vol. 6, nº 21, pág. 1-13, 2010.

SILVERSTEIN, RM; WEBSTER, FX & KIEMLE, DJ. *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, 7ª Ed., EUA: John Wiley & Sons. 2005. 550 p.

TALATI, R; PARIKH, S & AGRAWAL, YK. Pharmaceutical Counterfeiting and Analytical Authentication. *Current Pharmaceutical Analysis*, Emirados Árabes Unidos, vol. 7, pág. 54-61, 2011.

VIRELLA, D. Falsificação de medicamentos. Uma realidade à qual é preciso dar atenção. *Acta Pediátrica Portuguesa*, Portugal, vol. 39, nº 1, pág. 46-50, 2008.

WHO. *Counterfeit Drugs: Guidelines for the Development of Measures to Combat Counterfeit Drugs*. Genebra: World Health Organization, 1999.

WHO. *Counterfeit medicines: the silent epidemic*. Geneva: World Health Organization, 2006. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr09/en/index.html>>. Acesso em: 08.06.2013.

WHO. *General information on counterfeit medicines*. Geneva: World Health Organization, 2010. Disponível em: <<http://www.who.int/medicines/services/counterfeit/overview/en/>>. Acesso em: 08.06.2013.

WHO. *International medical products anti-counterfeiting taskforce (IMPACT) 2006-2010*. Itália: World Health Organization, 2011. Disponível em: <http://www.who.int/impact/handbook_impact.pdf>. Acesso em: 02.09.2014.

WHO. *Medicamentos espurios, de etiquetado engañoso, falsificados o de imitación*. World Health Organization: Nota descriptiva N° 275, 2012. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs275/es/index.html>>. Acesso em: 09.06.2013.

O Anexo 1 é constituído por artigo científico submetido à publicação no *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, com o título “*Development and LC -MS method validation for sibutramine and application in authentic and fake samples*”, cujo texto integral da dissertação defendida ocupa o intervalo compreendido entre as páginas 125 – 136.

Knobloch, JG¹, Knobloch, LG, Limberger RP¹, Fröhlich PE¹. *Development and LC -MS method validation for sibutramine and application in authentic and fake samples*.

¹Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Av. Ipiranga 2752, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

Endereço para correspondência do autor: telefone/fax +55 5133085313;
Endereço eletrônico: jessicaknobloch@hotmail.com (Knobloch, JG).