

Desenvolvimento de método analítico por polarimetria para doseamento de manitol em matéria-prima e solução injetável aplicado à indústria farmacêutica

Development of analytical method by polarimetry for mannitol assay in raw material and injectable solution applied to Pharmaceutical Industry

Recebido em 11/02/2011

Aceito em 06/07/2011

Jamile Beatrice Machado,¹ Valmir Boff,¹ Alex Dallegrave,¹ Andreas Sebastian Loureiro Mendez,² Cássia Virginia Garcia^{3*}

¹Indústria Farmacêutica Local, Porto Alegre/RS, Brasil

²Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), Curso de Farmácia, BR 472, km 585, Uruguaiana, RS, Brasil

³Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Farmácia, Porto Alegre, RS, Brasil

RESUMO

Um método por polarimetria foi desenvolvido e validado para a determinação do teor de manitol em matéria-prima e solução injetável no controle de qualidade de rotina de uma Indústria Farmacêutica local. Para tanto, empregou-se tetraborato de sódio a fim de formar um complexo aniônico com o fármaco, capaz de desviar o plano da luz polarizada. O método demonstrou ser específico, linear ($r = 0,9997$), preciso (DPR = 0,05 para matéria-prima; 0,36 para solução injetável, inter-dias), exato (99,13% de recuperação média) e robusto. Os resultados encontrados foram comparados aos obtidos com o método farmacopeico por titulação.

Palavras-chave: Manitol, polarimetria, solução injetável, validação

ABSTRACT

A polarimetry method was developed and validated for determination of mannitol in raw material and injectable solution in routine quality control of a pharmaceutical industry. Sodium tetraborate was used in order to form an anionic complex with the drug, able to rotate the plane polarized light. The method proved to be specific, linear ($r = 0.9997$), precise (RSD = 0.05 for bulk substance; 0.47 for injectable solution, inter-days), accurate (99.13% of recovery) and robust. The results obtained were compared to those from the method by titration described in pharmacopeia.

Keywords: Injectable solution, mannitol, polarimetry, validation

INTRODUÇÃO

O manitol (Figura 1) é um álcool de açúcar de seis carbonos, preparado comercialmente pela redução de dextrose. Na terapia, é utilizado como diurético osmótico, sendo filtrado no glomérulo, mas não reabsorvido no néfron. Assim, aumenta a quantidade de água eliminada, com menor aumento na eliminação de íons sódio. Os diuréticos osmóticos são indicados no tratamento de emergência de hipertensão intracraniana aguda ou de elevação aguda da pressão intra-ocular, os quais dependem

do aumento da osmolaridade plasmática por solutos que não entram no cérebro ou no olho, o que resulta na extração de água destes compartimentos (Rang *et al.*, 2007). Somente quantidades relativamente pequenas da dose administrada são metabolizadas (Hanson, 2000).

A solução parenteral de grande volume de manitol encontra-se disponível no Brasil, como medicamento específico com o nome comercial de Solução Injetável de Manitol 20%, embalado em bolsa de PVC (poli-cloreto de

* Contato: Cássia Virginia Garcia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Faculdade de Farmácia, Av. Ipiranga, 2752. Porto Alegre, RS, CEP 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil, e-mail: cassia.garcia@ufrgs.br

de vinila) (Brasil, 2008).

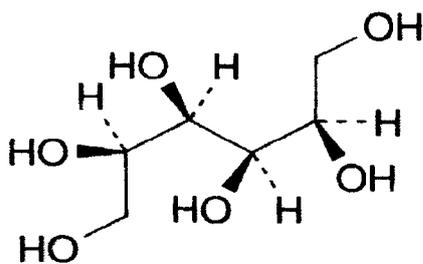


Figura 1. Estrutura química do manitol

Por tratar-se de um medicamento bastante utilizado, podem ser encontrados diferentes métodos oficiais e não oficiais para a doseamento de manitol. Com relação aos métodos oficiais, existem diferenças quanto às metodologias, destacando-se a Farmacopéia Britânica (2008), Farmacopéia Portuguesa (1997), Farmacopéia Americana (2008) e Farmacopéia Espanhola (2005), as quais indicam o método por cromatografia em fase líquida de alta eficiência (CLAE). As monografias que utilizam o método cromatográfico requerem o uso de um detector de refractômetro, o que se reflete como uma particular desvantagem, pois torna o equipamento limitado para outras análises. Além disso, as técnicas cromatográficas têm como características o maior tempo no preparo das amostras e o alto custo, tendo em vista a pureza exigida para os solventes empregados. Em análises nas quais não é necessária a separação de compostos, este método torna-se desvantajoso. As farmacopéias Brasileira IV (1988) e Japonesa (2006) apresentam o método de titulação iodométrica, o qual baseia-se em reações de oxidação-redução para análise quantitativa de manitol. A titulação apresenta algumas dificuldades, tais como: perda de iodo por volatilização, necessidade de padronização da solução titulante próximo ao experimento e a realização da análise no menor tempo possível (Gil, 2007). Além destes fatores, esta técnica requer tempo para sua execução, visto que há um grande número de etapas envolvidas, podendo levar a erros cumulativos, sujeitos a ocorrer desde o preparo da amostra.

Dentre os métodos não-oficiais, está o desenvolvido por Yamamoto e colaboradores (1998) para a determinação de manitol e sorbitol em alimentos por cromatografia iônica com detecção fotométrica polarizada e o de Pospisilová e et al. (2007) para a quantificação dos mesmos fármacos em solução intravenosa através da técnica de eletroforese capilar, utilizando a complexação com tetraborato de sódio e detecção espectrofotométrica indireta. Na literatura, também podem ser encontrados outros métodos analíticos como a técnica de resolução de curva multivariada baseado no método espectroscópico Raman para caracterizar e quantificar cinco formas polimórficas de manitol e método aplicando a rotação ótica na determinação de manitol injetável, utilizando bórax e hidróxido de sódio como reagentes (Xie *et al.*, 2008).

A polarimetria é um método bastante simples, baseado na propriedade de algumas substâncias de girar o plano da luz polarizada, sendo muito aplicado na indústria de açúcar e também na farmacêutica/cosmética (Martins, 2007; Ewing, 1972).

O presente trabalho objetiva o desenvolvimento e a validação da metodologia analítica por polarimetria para doseamento do manitol matéria-prima e Manitol 20% solução injetável de grande volume, produzido em Indústria Farmacêutica local, tendo como vantagens sua simplicidade, flexibilidade, além de proporcionar redução de custos operacionais e mínima geração de resíduos.

MATERIAL E MÉTODOS

A substância química de referência - manitol USP Reference Standard - foi gentilmente cedida pela Indústria Farmacêutica local, apresentando teor de 100,00%. Foram utilizadas D-manitol matéria-prima e amostras de solução injetável contendo 20% de manitol, de mesmo lote, embaladas em bolsas flexíveis de 250 ml, dentro do seu prazo de validade, cedidas pelo mesmo laboratório farmacêutico. Foram utilizados tetraborato de sódio decahidratado (NUCLEAR) e água para injeção, obtido do sistema de osmose reversa de duplo passo (POLIÁGUA), como solvente das amostras. O equipamento empregado foi o Polarímetro Automático ATAGO modelo AP-100, com leituras em 589 nm.

Determinação da rotação específica

A determinação da rotação específica foi realizada como etapa preliminar, necessária tanto para confirmação da identidade das amostras, como para obter o valor de rotação necessário às análises quantitativas. O método empregado foi o descrito na Farmacopéia Britânica (2008) para manitol matéria-prima, a qual foi preparada pesando-se 2,0 g de manitol e 2,6 g do reagente tetraborato de sódio, transferindo para um béquer contendo aproximadamente 20 ml de água para injeção e submetendo-se a solução ao aquecimento até 30 °C por 3 minutos. Após, a solução foi mantida sob agitação durante 15 minutos e transferida para balão volumétrico de 25 ml, completando-se o volume com água para injeção. A determinação da rotação específica foi realizada no polarímetro previamente calibrado. O resultado foi comparado com o valor descrito na literatura (+23 ° a +25°), o qual foi utilizado nos cálculos de doseamento do manitol.

Preparo das amostras

Uma alíquota de 25,0 ml de solução injetável de Manitol 20% foi transferida para balão volumétrico de 50 ml, completando o volume com água para injeção, obtendo-se uma solução de concentração final 10%. Deste, retirou-se uma alíquota de 25,0 ml para um erlenmeyer, adicionou-se 3,250 g de tetraborato de sódio para a reação de complexação com manitol, e submeteu-se ao aquecimento até completa solubilização, em temperatura não superior a 30 °C, o que resultou na formação aniônica de manitol (Arzneibuch, 1998). Para o preparo da amostra de matéria-prima pesou 20,0 g de manitol, que foi dissolvida com 50 ml de água para injeção em balão volumétrico de 100 ml. Completou-se o volume com água para injeção. Após procedeu-se conforme o preparo da amostra de solução injetável de Manitol.

Validação do método

A validação do método foi realizada considerando-se os

seguintes parâmetros: linearidade, exatidão, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), especificidade e robustez (USP 31, 2008; ICH, 2005; Brasil, 2003).

Especificidade

A especificidade do método foi avaliada através da análise da matriz, sem manitol, composta por água para injeção e tetraborato de sódio, nas concentrações padronizadas para a determinação.

Linearidade

A linearidade do método foi determinada pela realização da curva padrão. A partir da solubilização da substância química de referência de manitol, foram preparadas cinco soluções com concentrações de 5,0%, 8,0%, 10,0%, 12,0%, 15,0%.

A curva padrão foi obtida através da construção de um gráfico de concentração versus ângulo de rotação. A equação da reta foi determinada através do estudo de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados e a análise de variância (ANOVA) foi realizada para verificação da linearidade do método.

Exatidão

A exatidão foi avaliada pelo teste de recuperação, onde amostras de concentração conhecida de manitol solução injetável e matéria-prima, na concentração de 6,41%, foram adicionadas de três concentrações diferentes de substância química de referência (SQR), denominadas de M₁, M₂ e M₃, nas concentrações 3, 4 e 5%, respectivamente. As soluções foram preparadas em triplicata.

Precisão

Para a determinação da repetibilidade, foram analisadas seis amostras de manitol solução injetável e matéria-prima (concentração de trabalho 10%), em triplicata. A precisão intermediária foi avaliada através da realização das análises em dias diferentes, sempre em triplicata. Foram determinados os valores de desvio padrão relativo (DPR) no mesmo dia e inter-dias.

Robustez

A robustez foi determinada a partir de pequenas variações nos seguintes parâmetros: concentrações de tetraborato de sódio adicionada, temperatura de análise e tempo de reação entre manitol e tetraborato de sódio.

Comparação dos métodos

Para a realização da titulação iodométrica, seguiu-se a metodologia descrita na monografia da Farmacopéia Brasileira IV (1988). Pesou-se exatamente cerca de 200 mg de amostra para balão volumétrico de 250 ml, dissolveu-se em água para injetáveis e completou-se o volume com o mesmo solvente. Uma alíquota de 5,0 ml desta solução foi transferida para erlenmeyer de 250 ml com tampa esmerilhada, no qual adicionou-se 50 ml do reagente preparado pela mistura de 40 ml de ácido sulfúrico (1:20) e 60 ml de solução de periodato de potássio (1:1000), acidificada com 3 a 5 gotas de ácido sulfúrico SR. A solução final foi aquecida em banho-maria por 20 minutos, protegida da luz com papel alumínio.

Deixou-se arrefecer durante 15 minutos. Em seguida, foi adicionado 1,0 g de iodeto de potássio e deixado repousar por 5 minutos ao abrigo de luz. Após, a solução foi titulada com tiosulfato de sódio 0,02N, adicionando 3,0 ml de amido (Solução Indicadora) próximo ao ponto de viragem.

A partir da matéria-prima manitol e da solução injetável de manitol 20%, foram realizadas análises em triplicata e os resultados foram comparados com os aqueles obtidos pelo método proposto através do teste t de Student.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Tendo em vista a maior complexidade dos métodos oficiais descritos para a quantificação de manitol na matéria-prima e em solução injetável, justifica-se o desenvolvimento e a validação de métodos analíticos alternativos para o doseamento deste fármaco de maneira a auxiliar os laboratórios de controle de qualidade de indústrias farmacêuticas a garantirem medicamentos seguros e eficazes, além de otimizar o processo produtivo, reduzindo custos de análise e o impacto ambiental.

Um método analítico deve, idealmente, ser exato para fornecer o valor ideal, preciso para fornecer o maior número de ensaios esse valor real, ser seletivo para que a exatidão não desvie com interferentes potenciais, ser sensível ou capaz de determinar concentrações menores possíveis e responder de forma proporcionalmente linear, ao longo da faixa de concentração (Real Farmacopea Española, 2005).

Para o desenvolvimento do método, considerou-se o ensaio qualitativo de rotação específica descrito em monografias oficiais de manitol. O fármaco sofre alteração do plano de polarização e é opticamente ativado pela ionização do açúcar e álcoois desencadeada pela reação com o tetraborato de sódio, que resulta na formação de complexos aniônicos (Arzneibuch, 1998). O valor da rotação específica depende do número de moléculas que se interpõe no trajeto da luz, e o grau de rotação de uma amostra depende de sua concentração (Yamamoto *et al.*, 1998; Gil, 2007). O valor de rotação específica determinado para a amostra foi +23,44°.

A especificidade do método proposto mostrou-se adequada, visto que o placebo (água para injeção e tetraborato de sódio) não demonstrou leitura no polarímetro, indicando ausência de interferência da matriz.

A avaliação da linearidade, através da construção do gráfico de concentração versus ângulo de rotação, permitiu a observação de uma correlação linear na faixa de trabalho analisada. A equação da reta obtida foi $y = 0,4371x + 0,1713$, com coeficiente de correlação (r) de 0,9997. Para comprovação da linearidade do método, realizou-se a análise de variância (ANOVA), a qual demonstrou haver regressão linear significativa e ausência de desvio de linearidade ($p < 0,05$).

A precisão do método foi avaliada através da determinação das amostras de solução injetável de manitol e matéria-prima em um mesmo dia (precisão intra-dia) e em dias diferentes (precisão intermediária). Os resultados demonstraram que o método apresenta precisão adequada, pois, tanto no mesmo dia quanto em dias diferentes, os valores de DPR são baixos. O teor médio de manitol solução injetável foi de 100,3% (Tabela 1) e de 100,6% para a matéria-prima (Tabela 2).

Tabela 1. Valores experimentais do teste de precisão obtidos na determinação de manitol solução injetável por polarimetria

Amostra	Concentração (%)*			Inter-dias	DPR
	1º dia	2º dia	3º dia		
1	9,98	10,07	10,05		
2	10,17	9,98	10,07		
3	10,13	10,05	9,98		
4	10,11	10,03	9,99		
5	10,13	9,98	10,01	10,03	0,05
6	10,15	10,13	10,09		
Média	10,04	10,03	10,03		
DPR	0,52	0,46	0,45		

*cada valor é média de três determinações

Tabela 2. Valores experimentais do teste de precisão obtidos na determinação de manitol matéria-prima por polarimetria

Amostra	Concentração (%)*			Inter-dias	DPR
	1º dia	2º dia	3º dia		
1	9,90	9,97	10,01		
2	9,89	9,96	10,02		
3	10,04	9,98	10,04		
4	10,10	10,06	9,98		
5	10,11	10,04	9,98	10,06	0,47
6	10,13	10,15	10,08		
Média	10,11	10,04	10,02		
DPR	0,61	0,52	0,38		

*cada valor é média de três determinações

A exatidão do método foi observada através do teste de recuperação de manitol. A recuperação média foi de 99,13% para manitol solução injetável e 98,97% para manitol matéria-prima, resultados considerados satisfatórios e que demonstram que o método proposto é exato (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados referentes ao teste de exatidão por polarimetria de Manitol matéria-prima e solução injetável

Concentração Injetável	Concentração Manitol Solução		Recuperação (%)	Média (%)
	Adicionada (%)	Recuperada (%)*		
M ₁	3	2,96	98,66	
M ₂	4	3,98	99,53	99,13
M ₃	5	4,96	99,20	
Concentração Manitol Matéria-prima		Recuperação (%)	Média (%)	
M ₁	M ₂			
M ₁	3	3	100,0	
M ₂	4	3,94	98,49	98,97
M ₃	5	4,92	98,43	

*cada valor é média de três determinações

A análise dos valores encontrados para a concentração do manitol através de pequenas alterações no método proposto como, variação de temperatura, tempo de reação e concentração do tetraborato de sódio, indicaram que a metodologia proposta é robusta, pois não houve alterações significativas neste parâmetro (Tabelas 4, 5 e 6).

Tabela 4. Avaliação da robustez do método por polarimetria através da variação da concentração do tetraborato de sódio

Quantidade Tetraborato de sódio (g)	Concentração de Manitol Injetável (%)*	Média (%)	DPR
3,0	9,90		
3,5	10,41	10,22	2,23
4,5	10,35		

* cada valor é média de três determinações.

Tabela 5. Avaliação da robustez do método por polarimetria através da variação da temperatura no preparo da solução de tetraborato e manitol.

Temperatura (°C)	Concentração de Manitol Injetável (%)*	Média (%)	DPR
10	9,46		
15	9,41	9,65	3,11
30	10,87		

* cada valor é média de três determinações.

Tabela 6. Avaliação da robustez do método por polarimetria através da variação do tempo de reação entre tetraborato e manitol

Tempo de reação (minutos)	Concentração de Manitol solução injetável (%)*	Média (%)	DPR
5	10,37		
10	10,38	10,40	0,29
15	10,43		
20	10,44		

* cada valor é média de três determinações.

O doseamento de manitol matéria-prima e solução injetável por titulação iodométrica (método farmacopéico) demonstraram resultados satisfatórios, com valores de DPR inferiores a 2 %. Entretanto, trata-se de um método que exige um preparo da amostra muito extenso (em torno de uma hora) e bastante operacional, inviabilizando o processo produtivo em escala industrial devido à demora na liberação do resultado. A análise quantitativa pelo método proposto demandou em torno de vinte minutos para o preparo da amostra e obtenção do resultado, sendo mais adequada a aplicação pretendida. As médias dos doseamentos obtidos (em triplicata) para a matéria-prima foi 99,7% para titulometria e 99,4% para polarimetria, enquanto para a solução injetável foi 99,6% e 100,9%, respectivamente. Os valores de DPR ficaram abaixo de 2% para ambos os métodos. A comparação dos resultados pelo teste t de Student demonstrou não haver diferenças significativas ($t_{calc} < t_{tab}$).

Considerando os resultados de todos os parâmetros analíticos avaliados, pode-se afirmar que o método por

polarimetria foi satisfatoriamente validado para o doseamento de manitol em matéria-prima e solução injetável.

CONCLUSÕES

A validação de método analítico por polarimetria para doseamento de manitol em matéria-prima e solução injetável foi realizada satisfatoriamente, demonstrando que o método proposto é linear, preciso, exato, específico e robusto. Este método pode ser recomendado para a rotina de controle de qualidade em indústrias farmacêuticas, bem como para o controle em processo, visto que é rápido, apresenta baixo custo e otimiza o processo produtivo. Além disso, seu impacto ambiental também é pequeno, o que contribui para a comunidade local.

REFERÊNCIAS

Arzneibuch K. Wissenschaftliche Erläuterungen Zum Arzneibuch. Govi-Verlag Band 1998. II/4, M25.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 899, de 29 de maio de 2003.

Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 94, de 11 de dezembro 2008.

British Pharmacopoeia. London: BP Commission, 2008.

Ewing GW. Métodos Instrumentais de Análise Química. São Paulo: Blucher, 1972. 312p.

Farmacopéia Brasileira IV. São Paulo: Atheneu, 1988.

Farmacopéia Portuguesa 7 ed. Lisboa: Infarmed, 1997.

Gil ES. Controle Físico-químico de Qualidade de Medicamentos. 2 ed. São Paulo: Pharmabooks, 2007. 485p.

Hanson GR, *Diuréticos*. In: Genaro AR, (Ed). Remington A ciência e a prática da farmácia. 20 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap.75, p. 1397-1407.

ICH - International Conference on Harmonisation: Guidance for Industry Q2B-R1 Validation of Analytical Procedures: Methodology. Rockville. 2005.

Japanese Pharmacopoeia 15 ed. Tokyo, 2006.

Martins EL. *Validação para o doseamento do fármaco Sulfato de Condroitina através da técnica de polarimetria*. 2007. Passo Fundo. 51 p. Monografia (Graduação em Química), Universidade de Passo Fundo.

Pospířilov'A M, Pol'A`Sek M, Safra S, Petri`Ska I. Determination of mannitol and sorbitol in infusion solutions by capillary zone electrophoresis using on-column complexation with borate and indirect spectrophotometric detection. *J. Chrom A*, 1143(1-2): 258-263, 2007.

Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower R. In: O rim. *Farmacologia*. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. Cap. 24, p. 369.

Real Farmacopea Española. 3 ed. 2005.

USP 31, The United States Pharmacopeia, 31 ed. Rockville, 2008.

Xie Y, Cao W, Krishnan S, Lin H, Cauchon N. Characterization of mannitol polymorphic forms in lyophilized protein formulations using a multivariate curve resolution (MCR)- based Raman spectroscopic method. *Pharm Res*, 25(10): 2292-2301, 2008.

Yamamoto A, Ohmi H, Matsunaga A, Ando K, Hayakawa K, Nishimura M. Selective determination of sorbitol and mannitol in foodstuffs by ion chromatography with polarizes photometric detection. *J Chrom A*, 804 (1-2): 305-309, 1998.