

VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO INDICATIVO DE ESTABILIDADE PARA QUANTIFICAÇÃO DE PIRIMETAMINA EM SUSPENSÕES PEDIÁTRICAS OBTIDAS POR DERIVAÇÃO FARMACÊUTICA¹

Luana Mota Ferreira², Amanda Maccangnan Zamberlan³, Micheline Silva Dias⁴,
Andrea Inês Horn Adams⁵

¹ Projeto de pesquisa de pós-doutorado, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Santa Maria

² Pós-doutoranda, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria

³ Aluna de Iniciação Científica, Curso de Farmácia, Universidade Federal de Santa Maria

⁴ Aluna de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria

⁵ Professora orientadora, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria

Introdução: Alguns medicamentos são comercializados apenas na forma de comprimidos ou cápsulas e, para que seja possível sua administração para a população pediátrica, há necessidade de realizar a derivação farmacêutica. Esse é o caso da pirimetamina, um antiparasitário com potente atuação contra o *Toxoplasma Gondii*, que compõe o esquema terapêutico da toxoplasmose congênita em crianças e neonatos. **Objetivos:** Diante da necessidade da obtenção de uma formulação líquida contendo pirimetamina para o tratamento da toxoplasmose congênita em crianças e neonatos, o objetivo deste estudo foi desenvolver um método analítico indicativo de estabilidade, para quantificar o fármaco em suspensões do uso oral preparadas a partir do pó de comprimidos triturados, obtidos comercialmente. **Metodologias:** A suspensão foi preparada a partir do pó de comprimidos triturados de Daraprim[®] 25mg, para obtenção de uma formulação com 2 mg/mL. Ainda foram adicionados um agente espessante, edulcorantes, conservante e água como veículo. O preparo das soluções analíticas da amostra foi realizado pela pesagem de uma alíquota de suspensão, com subsequente diluição em metanol (1 mg/mL) e sonicação por 10 minutos. Em seguida, a amostra foi centrifugada a 3000 rpm por 10 minutos e diluída com água para alcançar a concentração de 10 µg/mL. A solução padrão de pirimetamina foi preparada em metanol (1 mg/mL) com subsequente diluição em água para alcançar a concentração de 10 µg/mL. O método foi desenvolvido em cromatógrafo Shimadzu (Kyoto, Japão), equipado com detector de arranjo de diodos. Os parâmetros avaliados para validação foram especificidade, linearidade, precisão, exatidão e robustez. Para determinação da especificidade, foi avaliado uma formulação placebo, ou seja, sem a presença dos comprimidos e também realizado um estudo de degradação forçada, onde uma solução padrão de pirimetamina foi submetida a condições de degradação ácida (HCl 0,1M), básica (NaOH 0,1) e oxidativa (H₂O₂ 35%) e após 24 horas de exposição, a concentração remanescente do fármaco foi quantificada. A linearidade foi obtida pela construção de três curvas analíticas na faixa de concentração de 1 a 25 µg/mL. A precisão foi

determinada pela análise do teor de pirimetamina em seis amostras independentes (repetibilidade) em dois dias e por dois analistas diferentes (precisão intermediária), sendo considerado adequados valores de desvio padrão relativo (DPR) menores que 2%. A exatidão foi avaliada pelo método de recuperação, onde quantidades conhecidas da solução padrão (correspondentes a 80, 100 e 120% da concentração usual de 10 µg/mL) foram adicionadas a uma amostra de suspensão de concentração fixa (5 µg/mL). Recuperações entre 98 e 102% foram consideradas aceitáveis. Para a robustez, pequenas modificações no método foram realizadas e a amostra foi analisada como descrita anteriormente. Valores de DPR menores que 2% foram consideradas aceitáveis e, também foram avaliadas alterações do tempo de retenção, pratos teóricos, fator de cauda e fator de capacidade. **Resultados:** As condições analíticas otimizadas foram as seguintes: fase móvel composta por tampão acetato de sódio 0,05 M pH 4,5 e acetonitrila (70:30, v/v); vazão de 1,2 mL/min; e a detecção foi realizada em um comprimento de onda 271 nm. O fármaco foi quantificado adequadamente em um tempo de retenção de 3,9 minutos e não foram detectadas impurezas no pico, o qual apresentou índice de pureza >0,9999. Cabe ressaltar que o conservante também foi detectado no cromatograma no tempo de retenção de 5,87 minutos. Em relação à especificidade, não houve interferência significativa dos constituintes da formulação na quantificação do fármaco. Apenas após exposição da amostra ao meio oxidante foi observado degradação (teor remanescente $95,4 \pm 0,3\%$), havendo detecção de um pico adicional no cromatograma em 1,4 minutos, atribuído ao peróxido de hidrogênio, porém não foram evidenciados picos extras referentes a produtos de degradação. O pico do fármaco apresentou índice de pureza adequado nas condições testadas, indicando que o método é seletivo para sua quantificação. O método se mostrou linear na faixa de concentração testada, onde foi observada regressão linear ($F_{cal} < F_{tab}$) e não houve desvio de linearidade ($F_{cal} > F_{tab}$). O método foi preciso, pois à nível de repetibilidade foi obtido DPR de 1,00% no dia 1, analista A, e DPR de 0,97% no dia 2, analista B. Na precisão intermediária o DPR foi de 1,09%. O método também foi considerado exato, uma vez que as quantidades recuperadas permaneceram na faixa de 98 a 102%. Na menor concentração (80%), o percentual de recuperação foi de $100,18 \pm 0,89\%$, na concentração intermediária (100%) foi de $101,55 \pm 1,03\%$ e na concentração alta (120%) a quantificação foi de $99,30 \pm 1,16\%$, obtendo-se um percentual médio de recuperação de $100,34 \pm 1,33\%$. Para avaliar a robustez foram feitas alterações na proporção de fase móvel, vazão e comprimento de onda. O teor médio de pirimetamina após as alterações permaneceu $102,88 \pm 1,00\%$. O aumento da proporção de acetonitrila houve uma redução no tempo de retenção para 3,5 minutos, e com a redução de acetonitrila o tempo de retenção foi de 4,2 minutos. O aumento na taxa de eluição reduziu o tempo de retenção para 3,6 minutos e com a redução da vazão houve aumento para 4,2 minutos. As mudanças no comprimento de onda de detecção não provocaram alterações importantes. Os demais parâmetros mantiveram-se adequados após as alterações no método. **Conclusões:** O método foi capaz de quantificar a pirimetamina, apresentando-se específico, linear, preciso, exato e robusto. **Palavras-chave:** toxoplasmose congênita; pediatria; controle de qualidade. **Agradecimentos:** CAPES e FIT-

UFSM.