

Padrões de impureza Mikromol: estruturas químicas seguras, valores de ensaios determinados cuidadosamente

RAZÕES TÉCNICAS PARA AS ESCOLHAS DOS ENSAIOS REALIZADOS - PADRÕES ANALÍTICOS CARACTERIZADOS DE ACORDO COM EXIGÊNCIAS DA RDC 166/2017

Estruturas químicas seguras

Na Mikromol, para os nossos padrões de referência de impurezas farmacêuticas, iniciamos nosso processo de avaliação da identidade dos compostos com um conjunto padrão de técnicas analíticas. Para a maioria das moléculas, depois de executar este conjunto de técnicas *default*, a estrutura química da impureza é assegurada.

Todos os dados em relação a estrutura química são interpretados. Os relatórios de interpretação são de propriedade intelectual, e não são incluídos no Certificado de Análise (CoA). No entanto, no CoA padrão, a identidade é formalmente assegurada por cada técnica através de uma declaração confirmando que "os sinais de espectros do IR/MS/RMN e suas interpretações são consistentes com a fórmula estrutural". Como a LGC é um provedor de padrões de referência de produtos farmacêuticos acreditado por diferentes órgãos oficiais, e tem produzido padrões farmacêuticos por mais de 25 anos, esta declaração confirma que os resultados de cada técnica foram devidamente avaliados, sem necessidade de reinterpretação dos espectros pelos usuários. Quando um cliente desejar receber esses dados, podemos fornecer um relatório de interpretação completo por uma taxa adicional, mediante solicitação.

O conjunto padrão de técnicas de identidade:

Ressonância Magnética Nuclear (RMN): ¹H-RMN e ¹³C-RMN

Espectros de RMN são únicos, bem-resolvidos e, muitas vezes, altamente previsíveis para pequenas moléculas, como impurezas. Espectros de ¹H-RMN são muito específicos, e diferentes grupos como os carbonos - primário, secundário e terciário são obviamente distinguíveis. Além disso, grupos funcionais idênticos com diferentes substituintes ainda apresentam sinais que podem ser bem diferenciados.

26 October 2018



Nosso CoA para um padrão de referência de impureza inclui sempre um espectro de ¹H-RMN. O espectro de ¹³C-RMN não é normalmente fornecido no CoA, podendo ser adicionado por uma taxa adicional, se solicitado. No entanto, o espectro de ¹³C-RMN é registrado e verificado para conformidade com a estrutura assumida.

Se os dados da literatura estiverem disponíveis, os espectros também são verificados contra esses dados. Os dados de RMN são registrados em um dispositivo Bruker Avance II-400 MHz.

Espectrometria de Massas (MS)

MS pode fornecer maiores informações sobre grupos funcionais, mesmo aqueles que não são detectados através de técnicas de RMN citadas acima. Dependendo das técnicas de ionização, padrões de fragmentação podem dar maiores informações sobre a estrutura de uma molécula. A sua propriedade mais importante, porém, é que o MS disponibiliza informações sobre a massa exata de uma determinada molécula. Também aqui os dados da literatura são verificados se disponíveis.

Nosso equipamento MS é um detector de massa quadrupolo, com um layout robusto para alto rendimento. De acordo com a característica da substância, se houver necessidade, temos também a capacidade de MS de alta resolução, mas não é utilizado rotineiramente para impurezas de pequenas moléculas quimicamente definidas.

Espectroscopia infravermelho (IR)

IR pode auxiliar os dados obtidos por RMN e MS. Dados isolados de IR nunca são conclusivos, a menos que seu espectro seja comparado com um espectro de um composto com identidade assegurada. Espectros completamente idênticos de IR confirmam a mesma identidade dos compostos analisados.

Análise elementar (EA, ou CHN)

Análise de CHN (composição de carbono, hidrogênio e nitrogênio) é uma ferramenta muito importante. A técnica é muito útil para identificar formas de sal de um composto orgânico.

Por exemplo, espectro RMN de um sal cloridrato ou uma base livre de uma molécula orgânica podem parecer o mesmo. Além disso, experimentos de HPLC-MS podem dar os mesmos tempos de retenção e espectros para ambas as formas de sal e base. Os dois compostos, no entanto, são facilmente diferenciados pelo resultado de uma análise de CHN. Esta análise pode ser solicitada, através de uma taxa adicional.

Ponto de fusão (MP)

MP pode também dar algumas informações de identidade e pureza. Determinamos o

26 October 2018



MP por calorimetria diferencial exploratória (DSC).

Técnicas de identificação adicionais:

Em resumo, ¹H-RMN, ¹³C-RMN, MS, IR, CHN e ponto de fusão são as técnicas para confirmar a identidade. Enquanto o MS, IR, CHN e ponto de fusão fornecem uma primeira indicação sobre a estrutura e, em especial, permitem a comparação com os dados da literatura. As técnicas H-NMR e C-NMR são adequadas para elucidar as estruturas a partir de zero, especialmente onde não há literatura disponível.

No caso em que a identidade não é assegurada pelas técnicas acima referenciadas, a LGC realiza experimentos de RMN adicionais incluindo DEPT, HSQC, HMBC, NOESY e COSY para comprovar a identidade em mais alto nível científico.

Em alguns casos, até mesmo ensaios de RMN não comprovam a estrutura química de forma segura, por exemplo, quando isômeros estereoquímicos são envolvidos. Em tais casos, uma análise de raios x é feita, onde o resultado é uma estrutura cristalina. Esta informação é devidamente analisada e documentada, porém, por ser considerada propriedade intelectual, não é disponibilizada no CoA default que acompanha o padrão.

Nos casos em que há uma literatura de referência sobre rotação óptica de um estereoisômero, esta análise será avaliada e incluída, se for relevante para o CoA.

Valores de ensaio determinados cuidadosamente

Para os nossos padrões de referência de impurezas, sempre que possível, utilizamos HPLC-PDA (ou outra técnica cromatográfica) e voláteis (água e solventes residuais) para calcular o valor da potência utilizando a equação abaixo. Também conhecido como o método 100%:

$$\text{Assay (\%)} = (100 \% - \text{volatile contents}) * \frac{\text{Purity (\%)}}{100 \%}$$

HPLC é a técnica mais utilizada para avaliar a pureza orgânica. O GC é usado somente quando HPLC não é aplicável.

A água é determinada pela técnica de Titulação Karl Fischer. Os solventes residuais são estimados pelo uso do ¹H-RMN, que é uma técnica eficiente e quase tão precisa quanto a determinação pelas técnicas de GC / headspace. Experimentos de perda por secagem (LOD) não são executados, uma vez que, a técnica não é tão precisa e exata

26 October 2018



quanto a determinação combinada de água e solventes residuais. Para a determinação da matéria inorgânica por cinzas sulfatadas, por favor, consulte a seção Perguntas Frequentes – FAQ, abaixo.

As explicações acima são válidas para a nossos padrões de referência de impurezas.

Para os nossos padrões de referência de IFA, além das análises já referenciadas, executa-se um segundo método de ensaio para confirmar o resultado do método 100%, e para dar ainda mais confiança no resultado do ensaio. Na maioria dos casos, para o segundo método de ensaio, adicionamos resultados da titulação de carbono da análise de CHN.

FAQs

Por que a LGC não realiza experimentos de raio-X?

Experimentos de raio-x são realizados quando é necessário uma técnica adicional para absoluta clareza sobre a estereoquímica (vide acima). E também são realizados para detectar formas de polimorfos, por exemplo para avaliar em qual estrutura cristalina o composto está presente.

Nossos padrões de referência de impurezas são utilizados principalmente em análises por HPLC, em solução, para o qual polimorfismo não é relevante. Dessa forma, consideramos que as análises de raio-X não são fundamentais, nos casos em que a técnica não fornece informações relevantes ao propósito de uso do padrão de referência.

Há casos em os padrões de referência de IFAs são utilizados para testes de lote de matéria-prima para determinar a correta forma cristalina, pela comparação com infravermelho. Neste caso, a correta forma cristalina pode ser determinada pelo raio-x, e podemos oferecer esta técnica analítica, quando solicitado, sob um custo adicional.

Por que a LGC não realiza cinzas sulfatadas rotineiramente?

Cinzas sulfatadas é uma técnica gravimétrica antiga classicamente estabelecida para detectar quantidades significativas de impurezas inorgânicas em amostras orgânicas (em particular os metais alcalinos e alcalinos terrosos, entre outros). Os metais são precipitados como sulfatos e, em seguida, a matéria orgânica é queimada por temperaturas acima de 600°C, deixando apenas os metais sulfatados, que são pesados. O resultado do parâmetro é a somatória das impurezas inorgânicas. Embora a técnica seja boa para detectar quantidades significativas de metais e para avaliação da qualidade de lote da matéria-prima (IFA), como um parâmetro de soma não é

26 October 2018



considerado pela LGC para ser usado na rotina para determinar as impurezas inorgânicas em um padrão de referência.

Para os nossos padrões de referência de impureza, em nossa rotina somos capazes de avaliar a presença significativa de matéria inorgânica em uma discrepância entre o valor teórico e experimental na análise CHN, e esse parâmetro é o indicativo para uma investigação adicional ou purificação do material padrão.

Para os nossos padrões de referência de API, produzidos sob a norma ISO 17034, realizamos técnicas de cinzas sulfatadas rotineiramente, para descartar qualquer presença significativa de matéria inorgânica. Para padrões de referência de impureza, esta rotina não é considerada necessária.

Por que razão LGC não indica que substâncias/impurezas no cromatograma de HPLC ou GC estão gerando os outros picos, além do pico do analito principal?

Esta informação não é necessária para a finalidade de caracterizar o padrão de referência do analito correspondente. Por ser considerada propriedade intelectual, a informação não é divulgada abertamente. Quando disponível e se necessário, em muitos casos, essa informação pode ser divulgada em um CoA personalizado, disponível por um taxa adicional.

Por que razão TGA e DSC não são incluídos no CoA?

Não estão inclusos dados de TGA no CoA, uma vez que, resultados de análise de água e solventes residuais estão disponíveis através de outras técnicas, e que fornecem a informações similares em um nível mais específico. Somente quando necessário, para obter mais informações sobre o comportamento da substância, são realizados experimentos de TGA, mas não será exibido no CoA padrão, podendo ser disponibilizado por uma taxa adicional.

Análise de DSC não é rotineiramente incluída no CoA, uma vez que, temos o método 100% expresso no CoA dos padrões de referência de impurezas. Contudo, usamos DSC para análise do ponto de fusão, como mencionado acima, e quando é observado alguma anomalia, é feita uma investigação mais profunda. Adicionalmente, temos informações derivadas de titulação de carbono (um resultado obtido em paralelo aos dados da análise de CHN, não apresentado no CoA), para confirmar o método 100%, internamente. Titulação de carbono é um parâmetro adicional, como análise de DSC, e pode ser considerado de valor equivalente.