

Antonia Maria Cavalcanti de Oliveira

**A Experiência de um Laboratório Oficial e o Desenvolvimento e Validação
de uma Metodologia para Análise de Teor de Didanosina Comprimido:
Ferramenta para as Boas Práticas de Fabricação.**

PPGVS/INCQS

FIOCRUZ

2003

**A Experiência de um Laboratório Oficial e o Desenvolvimento e Validação
de uma Metodologia para Análise de Teor de Didanosina Comprimido:
Ferramenta para as Boas Práticas de Fabricação.**

Antonia Maria Cavalcanti de Oliveira

Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Fundação Oswaldo Cruz

Orientadores: Dra. Elizabeth Moreira dos Santos
Dra. Tereza Cristina dos Santos

Rio de Janeiro
2003

A Experiência de um Laboratório Oficial e o Desenvolvimento e Validação de uma Metodologia para Análise de Teor de Didanosina Comprimido: Ferramenta para as Boas Práticas de Fabricação.

Antonia Maria Cavalcanti de Oliveira.

Dissertação submetida à Comissão Examinadora composta pelo corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz e por professores convidados de outras instituições, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre.

Aprovado:

Prof. _____

Dr. Carlos Rangel Rodrigues

Prof. _____

Dr. Lúcio Mendes Cabral

Prof. _____

Dra. Maria Auxiliadora Oliveira

Orientador: _____

Dra. Elizabeth Moreira dos Santos

Orientador: _____

Dra. Tereza Cristina dos Santos

Rio de Janeiro

2003

Oliveira, Antonia Maria Cavalcanti.

A experiência de um Laboratório Oficial e o Desenvolvimento e Validação de uma Metodologia para Análise de Teor de Didanosina Comprimido: Ferramenta para as Boas Práticas de Fabricação. Antonia Maria Cavalcanti de Oliveira. Rio de Janeiro: INCQS/ FIOCRUZ, 2003.

xxiii, 82p., il., tab.

Dissertação em Vigilância Sanitária, Prog. Pós-Graduação em Vigilância Sanitária/ INCQS, 2001. Orientadores: Dra. Tereza Cristina dos Santos; Dra. Elizabeth Moreira dos Santos

1. Didanosina. 2. Antiretroviral. 3. Política de Medicamentos. 4. Boas Práticas de Fabricação. 5. Validação de metodologia analítica. 5. Cromatografia líquida de alta eficiência.

I. Título.

Dedico este trabalho

Aos meus pais Ary e Joaquina (in memorian) pela dedicação, amor e carinho.
Às minhas irmãs e amigas, Ana e Andréia, e ao meu irmão Ary (in memorian).

Em especial, ao meu companheiro José e aos nossos pequenos, Caio e Isadora, que muito me socorreram nos momentos de angústia, e com amor e carinho souberam entender a minha ausência.

Existe somente uma idade para ser feliz, somente uma época na vida de cada pessoa em que é possível sonhar e fazer planos e ter energia bastante para realizá-los a despeito de todas as dificuldades e obstáculos. (.....) Essa idade tão fugaz na vida da gente se chama

PRESENTE

e tem a duração do instante que passa....

(Mário Quintana)

AGRADECIMENTOS.

Ao Instituto Vital Brazil S.A., representado por sua Diretora Presidente (março de 2001 a janeiro de 2003), Dra Elizabeth Moreira dos Santos que tornou possível a realização deste trabalho ao conceder minha liberação para o mestrado.

À Coordenação de Pós-Graduação do INCQS.

Às minhas orientadoras:

Dra Elizabeth Moreira dos Santos pelo incentivo, pelos desafios por ela estabelecidos e pelo carinho, cuja orientação conduziu-me além dos limites do laboratório, e pelo apoio nos momentos difíceis.

Dra Tereza Cristina, pelo incentivo, pelo carinho, pela ação exigente com a qual conduziu a orientação fazendo-me superar limites e pelo apoio nos momentos difíceis.

À profa.: Paula Aguiar pela atenção e ajuda no tratamento estatístico.

À amiga e mestranda Teresa Cristina, meu muito obrigado, pelas longas horas que dividimos na execução das análises, nas reflexões e discussões acerca do trabalho, nas dificuldades vividas, nas angústias sentidas e na alegria de ter o trabalho concluído.

Ao farmacêutico e amigo Rosemberg, às farmacêuticas Iara e Flávia, do Departamento de Controle Químico do Instituto Vital Brazil, que participaram efetivamente como analistas, cujas contribuições foram fundamentais para execução deste trabalho.

Aos funcionários do Instituto Vital Brazil Sandra Lúcia, Edil e Tomás pelo auxílio na construção da História do IVB.

Aos funcionários do Departamento de Controle Químico que seguraram a “barra” durante a minha ausência, principalmente às funcionárias Celina e Izabella por me substituírem na

chefia. E ainda a Chefe do Departamento de Controle Biológico, Joseane pelo apoio e amizade.

À amiga de curso Andréia, pessoa maravilhosa que tive o prazer de conhecer.

Às secretárias da pós-graduação Simone e Gisele pela atenção e ajuda.

Aos meus amigos. E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO.

A Didanosina (2',3'- dideoxiinosina), também denominada ddI, medicamento anti-retroviral, que compõe a terapia combinada utilizada no tratamento da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (aids), pertence à classe dos inibidores da enzima transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (ITRN).

Inicialmente, o presente estudo discutiu a importância de garantir o acesso e a qualidade dos medicamentos, a partir do fomento da Indústria Farmacêutica Nacional, em especial dos Laboratórios Nacionais, aumentando a oferta de medicamentos e contribuindo para a queda de preços, através da concorrência de mercado. Lembrando que garantir acesso apenas com fomento à produção tem alcance limitado, dessa forma discutiu ainda a importância de fomentar a indústria farmoquímica. Lembrou também, que para garantir o acesso e a qualidade, há necessidade de regulamentar as atividades, envolvidas na produção, comércio e distribuição de medicamentos, por intermédio do controle sanitário, através das ações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, destacando a validação da metodologia analítica, parte essencial das boas práticas de fabricação e controle, como ferramenta fundamental para o controle da qualidade dos medicamentos distribuídos no mercado, permitindo avaliar objetivamente a qualidade dos mesmos, a fim de garantir sua segurança e eficácia.

Ao incluir a história de desenvolvimento e produção de anti-retrovirais vivida pelos profissionais do Instituto Vital Brasil, destacou a necessidade urgente de investimento nos Laboratórios Oficiais, tanto para o desenvolvimento tecnológico como a capacitação de recursos humanos, frente ao papel que estes laboratórios desempenham para a saúde pública, como também, para uma constante atualização e modernização, tanto de equipamentos como de procedimentos, a fim de atender às normas, legislação sanitária, cada vez mais exigentes. Lembrando que não adianta apenas regulamentar as atividades de produção de medicamentos, sem efetivamente implementar uma política concreta de investimentos, que viabilize os Laboratórios Oficiais cumprir a legislação sanitária vigente.

A metodologia analítica desenvolvida, para análise de teor do comprimido de Didanosina, baseia-se na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa, com detecção pelo ultravioleta, foi considerada validada, sendo: específica, linear, exata e precisa nos níveis de repetitividade e precisão intermediária.

ABSTRACT.

The Didanosine (2', 3' – dideoxiinosine), also named ddI, anti-retroviral medicine, that composes the combined therapy used in the treatment of the Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS), belongs to the inhibitors transcriptase reverse nucleosides class (ITRN).

Initially, the present study discussed the importance of guarantee the access and the quality of the medicines from the incentive of the National Pharmaceutical Industry, especially from the National Laboratories, raising the offering of medicines and stimulating a price decrease. Remembering that guarantee the access only with incentive to the production has a limited reach, still discussing the importance to incentive the pharмоchemistry industry. Remembering as well that to guarantee the access and the quality, there is a need to regularize the activities involved in the production, commerce and distribution of medicines, trough the sanitary control by the actions of the Sanitary Surveillance National Agency, detaching the validation of the analytical methodology, an essential part of the good manufacturing practices and control, as a principal tool to the medicines quality control distributed in the market, allowing the objective evaluation the quality of the same, in order to guarantee the security and effectiveness.

Including the history of anti-retroviral development and production lived by the professionals of the Instituto Vital Brasil, detached the urgent need of investment at Official Laboratories, as for the technological development as the human resources capacitating, relating the role played by these laboratories to the public health, also to a constant actualization and modernization, not only equipments but also procedures, in order to attend the sanitary legislation, more exigent.

The analytical methodology developed, to analysis of the Didanosine tablet content, based on the high performance liquid chromatography (HPLC) in reverse phase, with detection by ultraviolet, was considered validated, being: specific, linear, exact and precise in the levels of repeatability and intermediary precision.

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS.

a - Coeficiente linear

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ANOVA – Analise of Variance ou análise de variância.

aids - Acquired immune deficiency syndrome ou síndrome da imunodeficiência adquirida

AZT – Zidovudina

b - Coeficiente angular

BPF - Boas Práticas de Fabricação

C_{cal} – C estatístico calculado (Teste de Cochran)

C tabelado – C estatístico (Teste de Cochran)

CLAE - cromatografia líquida de alta eficiência.

CDC - National Centers for Disease Control and Prevention.

CD4 - linfócitos T₄ ou células CD4.

DAD - Detector de arranjo de fotodiodos.

dATP - 2'- desoxiadenosina 5'-trifosfato.

ddA - 2', 3'- didesoxiadenosina.

ddAMP - 2', 3'- didesoxiadenosina -5'- monofosfato.

ddATP - 2', 3'- didesoxiadenosina -5'- trifosfato

ddc – Zalcitabina.

ddI – Didanosina ou 2',3'- didesoxiinosine.

ddIMP - 2',3'- didesoxiinosina -5'- monofosfato.

DNA – Ácido desoxiribonucleico.

DP - Desvio padrão.

DPR – Desvio padrão relativo.

DST - Doenças Sexualmente Transmissíveis.

$\sum S^2_j$ = Somatório das variâncias.

E=exponencial.

F-calculado - F estatístico calculado (Teste de F de Snedecor)

F- crítico - F estatístico tabelado (Teste de F de Snedecor)

FDA - Food and Drug Administration

G- calculado - G estatístico calculado (Teste de Grubbs)
G- crítico - G estatístico tabelado (Teste de Grubbs)
g – Grama.
gl -Graus de liberdade
GRID - Gay-related imune deficiency (imunodeficiência relacionada a “gays”).
 H_0 - Hipótese nula.
 H_1 - Hipótese alternativa.
HIV - Human Immunodeficiency Virus ou Vírus da Imunodeficiência Humana.
HIV-1 - Human Immunodeficiency Virus ou Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1.
HIV-2 - Human Immunodeficiency Virus ou Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 2.
HTLV - Human T-lymphotropic Vírus ou Vírus T-linfotrópico Humano.
HTLV-III - Human T-lymphotropic Vírus ou Vírus T-linfotrópico Humano tipo III.
IC - Intervalo de confiança
ICH - International Conference on Harmonization ou Conferencia Internacional de Harmonização
IQUEGO - Instituto Químico do Estado de Goiás.
IVB – Instituto Vital Brazil.
IP - Inibidor da protease.
ITRN - inibidores da transcriptase análogos de nucleosídeos.
ITRNN - inibidores da transcriptase não análogos de nucleosídeos.
 k' - Fator de capacidade
LAFEPE - Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco.
LAV - Lymphadenopathy Associated Vírus (Vírus Associado a Linfadenopatia).
M - Concentração molar
mcg – Micrograma
mg – Miligrama.
min. – Minuto
mL - Mililitro
MMWR - Morbidity and Mortality Weekly Report.
MQ - Média quadrática
MS – Ministério da Saúde

μ - Micra
 μL - Microlitro
nm - Nanometro
N - Número de pratos teóricos.
OMS - Organização Mundial de Saúde.
P.A - pró-análise.
PNIFF - Programa Nacional de Inspeção em Indústrias Farmacêutica e Farmoquímicas.
pH - Potencial de hidrogênio iônico
r - Coeficiente de correlação.
R - Resolução (cromatografia).
%R - Porcentagem recuperada
RDC - Resolução de Diretoria Colegiada.
RE - Resolução (legislação).
RNA - Ácido ribonucleico.
RNA-m - RNA mensageiro.
Rt = tempo de retenção
 S^2 = variância
SQ - Soma quadrática
SQR - substância química de referência.
SVS – Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária.
T - Fator de cauda ou assimetria.
Teste-F- Teste estatístico de Snedecor
UV/Vis – Ultravioleta / visível
v/v - Volume por volume
X = média dos resultados (valor encontrado)
Y = concentração teórica (valor esperado)

LISTA DE TABELAS

	Pág.
Tabela 1 – Resultado obtido com colunas cromatográficas diferentes.....	43
Tabela 2 – Resultados referentes à variação proporção da fase móvel.....	44
Tabela 3 – Resultados referentes à variação de pH da fase móvel (85:15).....	44
Tabela 4 – Resultados das áreas obtidas em diferentes períodos de tempo – estabilidade....	45
Tabela 5 – Calculo da ANOVA para estabilidade.....	45
Tabela 6– Apresentação das concentrações obtidas correspondentes a cada nível.....	50
Tabela 7 – Apresentação dos cálculos de média e desvio padrão para determinação do valor aberrante.....	51
Tabela 8 – Apresentação do cálculo das variâncias, desvio padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR) referentes às concentrações obtidas em cada nível.....	52
Tabela 9 - Anova na regressão.....	54
Tabela 10 - Valores de Y previsto e os respectivos resíduos.....	55
Tabela 11 – Resultados da exatidão (% recuperado) em cada nível de concentração.....	57
Tabela 12 – Resultados obtidos na avaliação da repetitividade.....	58
Tabela 13 – Precisão intermediária para o Laboratório A , analistas diferentes no mesmo equipamento.....	60
Tabela 14 – Teste-F para o Laboratório A , analistas diferentes no mesmo equipamento.....	60
Tabela 15 – Precisão intermediária para o Laboratório B , analistas diferentes no mesmo equipamento.....	61
Tabela 16 - Teste-F para o Laboratório B , analistas diferentes no mesmo equipamento.....	61
Tabela 17 - Precisão intermediária para o Laboratório C , analistas diferentes no mesmo equipamento.....	62

Tabela 18 - Teste-F para o Laboratório C , analistas diferentes no mesmo equipamento.....	62
Tabela 19 – Precisão intermediária para o Laboratório A mesmo analista em equipamentos diferentes.....	64
Tabela 20 – Teste-F para o Laboratório A , mesmo analista em equipamentos diferentes.....	64
Tabela 21 – Precisão intermediária para o Laboratório B mesmo analista em equipamentos diferentes.....	65
Tabela 22 – Teste-F para o Laboratório B , mesmo analista em equipamentos diferentes.....	65
Tabela 23 – Precisão intermediária para o Laboratório C , mesmo analista em equipamentos diferentes.....	66
Tabela 24 – Teste-F para o Laboratório C , mesmo analista em equipamentos diferentes.....	66
Tabela 25 – Precisão intermediária para o Laboratório A , analistas e equipamentos diferentes.....	68
Tabela 26 – Teste-F para o Laboratório A , analistas e equipamentos diferentes.....	68
Tabela 27 – Precisão intermediária para o Laboratório B , analistas e equipamentos diferentes.....	69
Tabela 28 – Teste-F para o Laboratório B , analistas e equipamentos diferentes.....	69
Tabela 29 – Precisão intermediária para o Laboratório C , analistas e equipamentos diferentes.....	70
.....	
Tabela 30 – Teste-F para o Laboratório C , analistas e equipamentos diferentes.....	70

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1- Esquema resumido do ciclo reprodutivo do Vírus HIV. (THE HIV, 2001).....	7
Figura 2 - Origem dos Riscos dos Medicamentos (FDA, 2000).....	17
Figura 3 – estrutura química da Didanosina (I) e da ddA (II).....	20
Figura 4 – Estrutura química da Hipoxantina.....	21
Figura 5 – Estrutura química da 2'- desoxiadenosina- 5'-trifosfato (dATP) substrato natural.....	23
Figura 6 - Espectro UV/Visível da Didanosina nas condições cromatográficas, $\lambda_{\text{máx}}$ 248 nm.....	43
Figura 7 - Cromatograma obtido nas condições de análise	46
Figura 8 - Cromatograma obtido após exposição à temperatura de 100 ⁰ C.....	47
Figura 9 - Cromatograma obtido após exposição à solução de ácido clorídrico 0,1N.....	47
Figura 10 - Cromatograma obtido após exposição à solução de peróxido de hidrogênio 3 %	48
Figura 11 - Cromatograma após injeção da solução de hipoxantina.....	49
Figura 12 - Cromatograma obtido após injeção da solução de Didanosina contaminada com hipoxantina, R= 13,51.....	49

LISTA DE QUADROS

	Pág.
Quadro 1 - Características requeridas para a validação pela USP.....	29
Quadro 2 - Características requeridas para a validação pelo ICH.....	29
Quadro 3 - Determinação da exatidão.....	32
Quadro 4 - Parâmetros e recomendações para o teste de verificação da adequação do sistema.....	42

LISTA DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 1: Evolução do número de óbitos por aids no Brasil de 1982 a 2000 segundo dados do Boletim Epidemiológico (GALVÃO, 2002).....	09
Gráfico 2 - Linearidade.....	53
Gráfico 3 – Gráfico de resíduos.....	56
Gráfico 4 – Gráfico dos valores de Y experimental e Y previsto.....	56

LISTA DE ESQUEMAS

	Pág.
Esquema 1- Mecanismo simplificado da ativação da Didanosina.....	22

SUMÁRIO

	Pág.
1) INTRODUÇÃO:	1
1.1) Apresentação.	1
1.2) Breve Histórico sobre a aids.	1
1.3) Agente Etiológico: Ciclo Evolutivo e os Medicamentos Anti-retrovirais.	6
1.4) Política de Medicamento e Qualidade.	10
1.4.1) Garantindo o acesso.	10
1.4.2) Base Legal.	14
1.5) Estudos de Validação.	18
1.6) Didanosina:	19
1.6.1) Breve Histórico:	19
1.6.2) Caracterização físico-química e ação farmacológica da Didanosina.	20
1.6.3) Mecanismo de ação:	21
2) OBJETIVOS.	24
2.1) Objetivo Geral	24
2.2) Objetivos específicos.	24
3) PARTE EXPERIMENTAL.	25

3.1) Reflexão sobre a experiência de um Laboratório Oficial.	25
3.2) Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica.	25
3.2.1) Materiais e Reagentes.	25
3.2.2) Desenvolvimento.	25
3.2.3) Metodologia Analítica Proposta.	26
3.2.3.1) Condições cromatográficas.	27
3.2.3.2) Preparo da solução de acetato de sódio 0,01M.	27
3.2.3.3) Preparo da Fase móvel.	27
3.2.3.4) Preparo do padrão.	27
3.2.3.5) Preparo da amostra.	27
3.2.3.6) Procedimento analítico.	28
3.2.4) Validação da metodologia analítica proposta.	28
3.2.4.1) Testes de verificação da adequação do sistema (System suitability test)	30
3.2.4.2) Especificidade:	30
3.2.4.3) Linearidade:	30
3.2.4.4) Exatidão:	32
3.2.4.5) Precisão:	32
4) RESULTADOS E DISCUSSÕES.	34
4.1) A História Contada por Quem Fez.	34
4.2) Desenvolvimento da metodologia analítica.	42

4.3) Validação da Metodologia Analítica:	46
4.3.1) Especificidade.	46
4.3.2) Linearidade.	49
4.3.2.1) Determinação de valores aberrantes:	50
4.3.2.2) Homocedasticidade.	51
4.3.2.3) Determinação do coeficiente de variação (desvio padrão relativo).	52
4.3.2.4) Curva de Calibração:	53
4.3.2.5) ANOVA na regressão.	54
4.3.2.6) Gráfico de resíduos	54
4.3.3) Exatidão.	56
4.3.4) Precisão:	58
4.3.4.1) Repetitividade:	58
4.3.4.2) Precisão Intermediária.	59
4.3.5) Faixa.	71
5) CONCLUSÃO.	72
6) BIBLIOGRAFIA.	74

1) INTRODUÇÃO:

1.1) Apresentação.

A partir de um trabalho inicial, em um Laboratório Produtor Estatal, o Instituto Vital Brazil S.A. (IVB) empresa administrada pelo Estado do Rio de Janeiro, o presente trabalho recupera a história de produzir anti-retrovirais, a fim de refletir sobre esta experiência, à luz das Boas Práticas de Fabricação, e propõe validação de uma metodologia para análise de teor, baseada na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizada no controle da qualidade do comprimido de Didanosina 100 mg. A Didanosina é um anti-retroviral que compõe a terapia combinada, utilizada no tratamento da infecção da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, pelo HIV (vírus da Imunodeficiência Humana). O estudo assume especial relevância por propor metodologia analítica ainda não descrita nos compêndios oficiais.

Um aspecto importante que este estudo contemplou foi ressaltar a importância dos estudos de validação, em particular, a validação de metodologia analítica, como componente das Boas Práticas de Fabricação e controle, para garantia da qualidade, segurança e eficácia do produto.

1.2) Breve histórico sobre a aids:

A sigla aids, abreviação do inglês *Acquired Immune Deficiency Syndrome* - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AURÉLIO, 1999), refere-se ao nome de uma doença, sendo, portanto, um substantivo comum, que deve ser grafado com inicial minúscula, exceto quando se referir a nomes próprios de entidades, como por exemplo, Coordenação de DST e Aids (OLIVEIRA, 2001). Desse modo, atualmente a grafia indicada para denominar a doença é aids, com letras minúsculas e que será adotado pelo presente estudo.

Os primeiros casos de aids foram identificados em 1981, nos Estados Unidos, quando ainda se conhecia muito pouco sobre a origem da doença, ainda não classificada e de etiologia desconhecida.

Em março de 1981 ocorreu entre jovens homossexuais de Nova York, uma forma mais agressiva do Sarcoma de Kaposi, até então conhecida como uma rara e relativamente benigna forma de câncer. Durante o mesmo período, houve um aumento do número de casos, tanto na Califórnia como em Nova York, de pneumonia por *Pneumocystis carinii* (FREDRIKSSON 2002), infecção rara, que acomete pessoas com o sistema imunológico debilitado, considerada uma doença oportunista (OLIVEIRA, 2001).

Em abril do mesmo ano, o *National Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), notifica o aumento de casos de pneumonia por *Pneumocystis carinii* (FREDRIKSSON & KANABUS, 2002). O CDC com sede em Atlanta, Geórgia, é a agência governamental responsável pelas atividades de vigilância de doenças dos Estados Unidos, assumindo atividades de prevenção, pesquisa, vigilância da morbidade e mortalidade em geral. Engloba diferentes centros, dentre eles o *Centers for Disease Control* (Centro de Controle de Doenças), o maior deles, onde foram e são realizadas pesquisas biomédicas e epidemiológicas sobre a aids (OLIVEIRA, 2001).

A ocorrência dessas infecções oportunistas e câncer começam a preocupar médicos e cientistas, e em junho de 1981, o CDC publica no seu boletim semanal, o *Morbidity and Mortality Weekly Report* (MMWR) um artigo relatando cinco casos de *Pneumocystis carinii*, em Los Angeles, em homens jovens, homossexuais, sendo que um já havia falecido (OLIVEIRA, 2001; GALVÃO, 2002). Informando que “uma nova e assustadora constelação patológica atacava homens que tinham em comum a homossexualidade....” (OLIVEIRA, 2001, p. 94)

Essa publicação é algumas vezes referida como o início da aids, mas poderia ser mais correto, descrevê-la como o início da conscientização geral em relação à aids nos Estados Unidos (FREDRIKSSON & KANABUS, 2002).

E assim o mundo se vê frente ao que parecia ser uma nova doença, de etiologia ainda desconhecida e que tem em comum a ocorrência entre jovens homens homossexuais, e que ataca o sistema imunológico do organismo deixando-o vulnerável a infecções oportunistas e câncer.

Neste período várias teorias foram desenvolvidas acerca da possível causa dessas infecções oportunistas e câncer. As teorias iniciais incluíram, infecção com citomegalovírus, o uso de nitrito de amila ou butila sob a forma de inalantes para intensificar o orgasmo (“*poppers*” em inglês) e sobrecarga imune (OLIVEIRA, 2001; FREDRIKSSON & KANABUS, 2002). Segundo Parker et al (1994) procurava-se uma ligação intrínseca com a homossexualidade, enquanto se buscava uma explicação para o surto dessa doença desconhecida. Como podemos perceber, por exemplo, pelo o que foi noticiado por Dr Curran do CDC, em julho de 1981:

“Dr Curran disse que não havia aparente perigo de contágio para não homossexuais. A melhor evidência a cerca do contágio, disse ele, é que nenhum caso tem sido noticiado fora da comunidade homossexual ou em mulheres” (FREDRIKSSON & KANABUS, 2002).

Apenas cinco meses mais tarde, em dezembro de 1981, foi noticiado o primeiro caso de pneumonia por *Pneumocystis carinii* entre usuários de drogas injetáveis.

Ainda assim, em 1982, a doença recebeu o nome de GRID (*Gay-related immune Deficiency* - imunodeficiência relacionada a “gays”) (GALVÃO, 2002). “Termo comum na imprensa leiga e em menor escala nos periódicos científicos” (OLIVEIRA, 2001, p. 98).

Havia pouco conhecimento, e conseqüentemente muita preocupação, dos especialistas, acerca do seu contágio. Em junho de 1982, foi noticiada a ocorrência de vários casos dentre homens “gays” no sul da Califórnia, sugerindo assim que a doença poderia ser causada por um agente infeccioso que era sexualmente transmitido (FREDRIKSSON & KANABUS, 2002). Segundo Oliveira (2001), os epidemiologistas do CDC já tinham essa convicção antes mesmo do final de 1981.

Em julho de 1982 foi noticiado que a doença estava ocorrendo em haitianos e hemofílico. Posteriormente, em agosto, a nova doença recebeu um nome oficial “aids”, uma abreviação de *Acquired Immune Deficiency Syndrome* (Síndrome da Imunodeficiência Adquirida). A escolha do nome foi conseqüência de um consenso estabelecido entre especialistas. Foi considerada uma síndrome, em função da deficiência causada dentro do Sistema Imune, ou seja, imunodeficiência, acompanhada de inúmeras manifestações, que são em conseqüência das condições adquiridas, e não herdadas. (OLIVEIRA, 2001; FREDRIKSSON & KANABUS, 2002).

A ocorrência de um caso de aids em uma criança que havia recebido múltiplas transfusões de sangue, no final de 1982, forneceu claras evidências de que era causada por um agente infeccioso (FREDRIKSSON & KANABUS, 2002).

Dessa forma, a ocorrência de casos de aids entre receptores de sangue e hemoderivados, incluindo os hemofílicos, em pessoas heterossexuais, esposas de hemofílicos, consumidores de drogas injetáveis e em recém-nascidos de mães doentes, fez a pesquisa afastar-se da hipótese de “câncer gay” para a hipótese de uma doença tipo infeccioso, transmissível pelo sexo e pelo sangue, como a hepatite B, e cujo agente etiológico poderia ser um vírus. (PARKER et al, 1994; OLIVEIRA, 2001).

Assim, a hipótese de etiologia viral, foi fortalecida principalmente pela ocorrência de casos de aids entre hemofílicos, que faziam uso freqüente de produtos hemoderivados, obtidos a partir da concentração da mistura de amostras de sangue esterilizadas por meio de um processo de filtração, que remove microrganismos contaminantes como fungos, bactéria e protozoários, exceto as partículas virais. (OLIVEIRA, 2001).

Em 1983, o pesquisador Luc Montagnier do Instituto Pasteur na França, acredita ter isolado um novo vírus, e que este seria o agente infeccioso da aids. O vírus foi denominado *Lymphadenopathy Associated Virus* (LAV), ou seja, Vírus Associado a Linfadenopatia. Mais tarde, em 1984, o Dr Robert Gallo, do Instituto Nacional de Saúde dos Estados Unidos, que há vários anos dedicava-se à pesquisa sobre retrovírus e suas relações com câncer, anunciou uma nova variedade do tipo HTLV (*Human T-lymphotropic Virus*), o HTLV-III, ou seja, Vírus T-linfotrópico Humano tipo III, como sendo o agente infeccioso da aids. Inicia-se então a discussão, sobre as duas pesquisas, se tratava de agentes diferentes ou descobertas paralelas de um mesmo agente. Até que em 1986, um comitê internacional avalia e declara que o LAV e o HTLV-III são o mesmo vírus, ou seja, um mesmo agente. Dessa forma, recomendou-se o termo *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), ou seja, Vírus da Imunodeficiência Humana, para denominar o agente etiológico capaz de infectar seres humanos, levando-os a desenvolver a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (PARKER et al, 1994; GALVÃO, 2002). “Hoje sabe-se que não foram descobertas paralelas, mas uma renomeação norte-americana do vírus isolado na França” (PARKER et al, 1994, p.49)

Neste mesmo ano foi identificado um segundo agente etiológico, também um retrovírus denominado HIV-2, com características semelhantes ao HIV-1.

Com a descoberta do agente etiológico da aids, a vulnerabilidade não fica mais restrita aos grupos de riscos definidos: os homossexuais masculinos, os usuários de drogas injetáveis, os receptores de transfusões ou hemoderivados, como os hemofílicos e na fase inicial da doença os haitianos, é agora de todos, estende-se à população inteira. (PARKER et al, 1994)

No Brasil, os primeiros casos de aids foram identificados em 1982, quando sete pacientes de prática homo/bissexual foram diagnosticados. Um caso foi reconhecido retrospectivamente na cidade de São Paulo em 1980 (CASTILHO & CHEQUER, 1997).

No início dos anos 80, o quadro epidemiológico desenhado pela aids no Brasil, onde dos 10 casos notificados em 1982 havia 10 óbitos, dos 39 casos em 1983 havia 38 óbitos, dos 140 casos de 1984 havia 105 óbitos e dos 573 casos em 1985 havia 462 óbitos (GALVÃO, 2002), era no mínimo assustador, apresentando uma doença de progressão exponencial e alta letalidade. Ficando claro a necessidade de se implementar políticas públicas urgentes, para o combate à epidemia, entendendo políticas públicas como “(...) a resposta que o Estado oferece diante de uma necessidade vivida ou manifestada pela sociedade”. (TEIXEIRA, 1997, p. 43).

Portanto, em 1985 através da Portaria nº 236 de 02 de maio de 1985 do Ministério da Saúde, foram estabelecidas as diretrizes para o programa de controle da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, que atribui à Divisão de Dermatologia Sanitária, a coordenação do mesmo (BRASIL, 1995, GALVÃO, 2002). Em 1986 a aids passa a ser uma doença de notificação compulsória. E posteriormente, em 1988, foi criado o Programa Nacional de AIDS no âmbito do Ministério da Saúde (GALVÃO, 2002), visando centralizar, as normas e atividades de combate à epidemia a serem implementadas em todo país.

Nos primeiros anos da aids, prevalecia a transmissão homo/bissexual representando 100 % dos casos notificados entre 1980 a 1983. Em 1984, foi notificada pela primeira vez a ocorrência de aids por transmissão heterossexual, representando 2,7 % do número total de casos notificados por transmissão sexual, enquanto que a transmissão homo/bissexual representava 97,3 %. Em 1990 a transmissão heterossexual representava 14,2 % e, em 1997 representava 55,1 % do total de casos notificados por transmissão sexual. Enquanto que a transmissão homo/bissexual representava 85,8% em 1990, e 44,9% em 1997 (CASTILHO & CHEQUER,1997). Pode-se perceber um aumento da transmissão heterossexual e diminuição da transmissão homossexual.

Em 1983, é notificada pela primeira vez a ocorrência de aids em mulheres, representando 5,1 % do total de casos de aids notificados. Em 1984, o número de casos em mulheres representava 3,6 %, em 1990 representava 11,2 %, em 1997 representava 31,5 % e em 2000 representava 34,6 % do número total de casos de aids notificados (GALVÃO, 2002).

Portanto o perfil epidemiológico da aids no Brasil vem mudando ao longo do tempo, atualmente assistimos a uma heterossexualização e feminização da epidemia de aids.

O número de casos dentre o nível de escolaridade mais baixa também vem crescendo. A totalidade de casos notificados até 1982 era de nível superior ou segundo grau. Em 1983 era de 83,8 % e em 1984 era de 83,9 %. Já em 1985, do número total de casos notificados 76 % era de nível superior ou segundo grau e apenas 24 % dos casos eram analfabetos ou tinham cursado o primeiro grau. A tendência de aumento de casos de pacientes de menor grau de escolaridade se manteve ao longo do período, até que em 1994, constatava-se que 69,0 % dos casos eram analfabetos ou tinham cursado apenas o primeiro grau, e 31 % de nível superior ou segundo grau (CASTILHO & CHEQUER, 1997). Caracterizando um processo denominado como a pauperização da epidemia de aids

(BASTOS et al, 1995), o que para a saúde pública é muito preocupante, uma vez que, o baixo nível de escolaridade reflete as restrições sócio-econômicas vividas por esta população, e conseqüentemente a dificuldade de acesso às condições básicas necessárias à manutenção da sua saúde.

O processo de pauperização da epidemia é também caracterizado pela análise da sua dinâmica, nas áreas geográficas de diferentes estratos sócio-econômicos, que aponta para um aumento de novos casos de aids em indivíduos pertencentes aos estratos sócio-econômicos mais baixos (BASTOS et al, 1995).

Dessa forma Teixeira (1997, p. 67), lança um questionamento.

“Num momento em que a epidemia de aids em nosso país passa por um processo ainda mais agudo de pauperização, sendo constituída cada vez mais por pessoas que têm, na prática, restringidos muitos dos seus direitos, é importante perguntarmos como serão formuladas e implementadas as políticas públicas de saúde” .

Atualmente a aids deixa de ser uma doença restrita aos grandes centros urbanos, para se disseminar pelo país. O número de municípios de médio e pequeno porte, com casos de aids notificados vem crescendo. Está ocorrendo uma difusão da aids para o interior do país, ou seja, o processo da interiorização da epidemia (BASTOS et al , 1995). Fato que também é preocupante, uma vez que os municípios do interior do país, apresentam dificuldades ainda maiores, quando comparados aos grandes centros, no que diz respeito ao acesso aos serviços de saúde e conseqüentemente à assistência necessária para o doente com HIV/aids. Se nos grandes urbanos, é presenciado um sucateamento e falência da rede pública de saúde, o que dizer do interior do país.

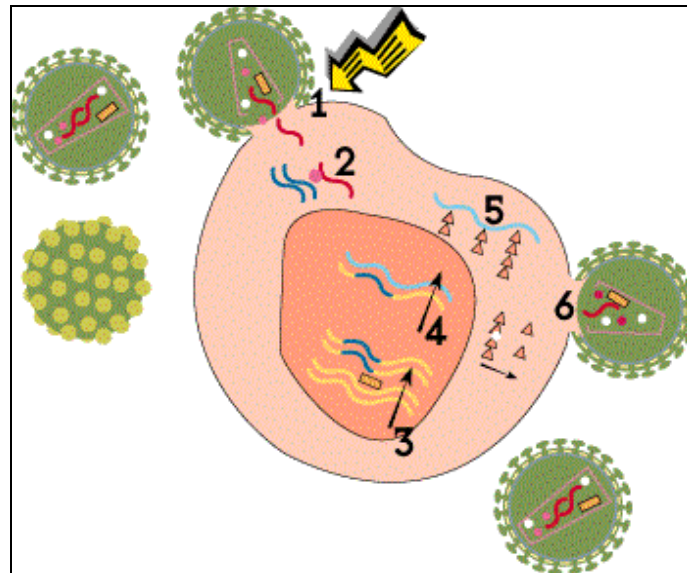
Portanto, para o Programa Nacional de Aids, dentre as populações alvo de sua política nacional, atenção especial deve ser dada à questão de gênero e pobreza, ou seja, as mulheres, considerando prioritariamente o controle da transmissão materno infantil, e populações em situação de pobreza (MS, 2002a).

1.3) Agente Etiológico: Ciclo Evolutivo e os Fármacos Anti-retrovirais.

O HIV é um retrovírus da família Lentiviridae com genoma de RNA, envolto em proteína viral e membrana celular. Pertence ao grupo dos retrovírus citopáticos não oncogênicos (não causam câncer), e possuem uma enzima denominada transcriptase

reversa responsável pela transcrição do RNA viral em DNA proviral, e conseqüentemente pela replicação viral.

O mecanismo de replicação do HIV, ou seja, seu ciclo reprodutivo é apresentado de forma resumida na figura 1, página 7.



- 1) Adsorção ao receptor CD4 e penetração na célula humana;
- 2) A transcrição do RNA viral em DNA proviral, dependente da enzima transcriptase reversa;
- 3) Integração do DNA proviral ao genoma da célula infectada, dependente da enzima integrase;
- 4) Transcrição do DNA proviral em RNA- m. Inicialmente ocorre a separação das duplas fitas do DNA viral, ainda dentro do núcleo, em seguida é criada uma fita complementar contendo a informação para criar novos vírus, denominada RNA mensageiro ou RNA-m.
- 5) O RNA-m sai do núcleo levando as instruções necessárias para fazer novos vírus.
- 6) A montagem de novas partículas virais, por intermédio da enzima protease. O vírus recém formado é liberado por brotamento.

Figura 1- Esquema resumido do ciclo reprodutivo do Vírus HIV (THE HIV, 2001).

O vírus recém formado é então liberado, podendo infectar novas células. O HIV tem capacidade de infectar linfócitos através da ligação de glicoproteínas virais ao receptor específico da superfície celular, receptor CD4, portanto esses linfócitos são denominados linfócitos T₄ ou células CD4. Os linfócitos T₄ são as células responsáveis, células *T helpers*, pela ativação do sistema imune, quando o organismo é invadido por um vírus,

são considerados os elementos mensageiros, e, portanto, componentes essenciais para resposta imunológica. O quadro clínico de imunossupressão subjacente causado pela aids caracteriza-se pela diminuição acentuada do número de linfócitos T₄ (PARKER et al, 1994; OLIVEIRA, 2001). Dessa forma, a contagem de células CD4 é um dos parâmetros utilizados para avaliar a infecção pelo HIV, e eleger a terapia anti-retroviral empregada.

O estudo do ciclo reprodutivo do HIV foi revelando processos passíveis de interferências, pela atuação de medicamentos (OLIVEIRA, 2001).

Atualmente três classes de drogas estão aprovadas, nacional e internacionalmente, para o tratamento anti-retroviral: 1) as que agem ao nível da enzima transcriptase reversa impedindo a multiplicação viral, representada pelos medicamentos inibidores da enzima transcriptase reversa; 2) as que agem no último estágio do ciclo reprodutivo do HIV impedindo a montagem de novos vírus, representada pelos medicamentos inibidores da enzima protease (IP) (MS, 2002b); 3) e as que agem inibindo a fusão (adsorção), interferindo na entrada do vírus para dentro das células, representada pelos medicamentos inibidores da fusão (FDA, 2003). Os inibidores da transcriptase reversa se dividem em dois grupos: os análogos de nucleosídeos (ITRN), que possuem similaridade estrutural com os 2'- desoxinucleotídeos naturais com os quais competem, e necessitam de ativação prévia para exercer atividade inibidora, e os não análogos de nucleosídeos (ITRNN) que não requerem ativação prévia e atuam diretamente sobre a enzima transcriptase reversa (FLOREZ, 1997). A Didanosina pertence à classe dos inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (ITRN).

A terapia anti-retroviral é uma área complexa, que deve ser revista periodicamente e balizada através dos novos conhecimentos gerados pelos ensaios clínicos. O Ministério da Saúde padroniza o tratamento através da elaboração e recomendação dos consensos terapêuticos.

O primeiro Consenso Terapêutico foi emitido em 1996, após promulgação da Lei nº 9313, de 13 de Novembro de 1996 (MS,1996), que garante aos portadores do HIV e doentes de aids receber, gratuitamente, do Sistema Único de Saúde, toda a medicação necessária ao seu tratamento, e determina que o Ministério da Saúde padronize os medicamentos a serem utilizados, através do Consenso Terapêutico, que deve ser revisto e republicado anualmente (MS, 1996) quando seria atualizado com base nos conhecimentos científicos e na disponibilidade de novos medicamentos no mercado. Dessa forma o Ministério da Saúde, desde 1996, vem anualmente atualizando e emitindo Consenso

Terapêutico, que consistem em recomendações para a terapia anti-retroviral. O último emitido foi o Consenso 2002/2003, em outubro de 2002 (MS, 2002c).

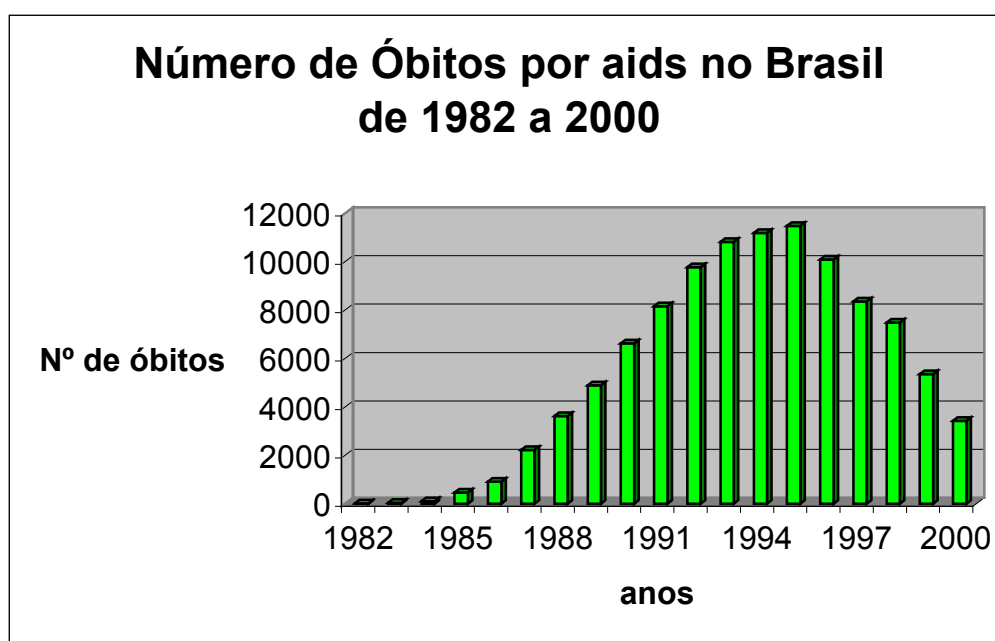
O acesso à terapia anti-retroviral é ponto crucial, tanto para evitar a manifestação das doenças oportunistas, proporcionando maior sobrevida, como também um aumento na qualidade de vida, relacionado diretamente com uma melhor condição física e emocional do indivíduo infectado pelo HIV.

Importante destacar que a distribuição de medicamento anti-retroviral pelo sistema público de saúde teve início em 1991, com o medicamento AZT. Em 1993 iniciou-se a distribuição da Didanosina (ddI) (GALVÃO, 2002).

Devido à utilização dos anti-retrovirais a mortalidade vem diminuindo, chegando a apresentar queda de 54% no município de São Paulo e 73% no município do Rio de Janeiro no período de 1995 a 2000. Pelo mesmo motivo, o Ministério da Saúde estima que entre 1997 a 2000, foram poupados 667 milhões de dólares em internação e tratamento de infecções oportunistas (GALVÃO, 2002).

No gráfico 1, página 9, é apresentado número de óbitos por aids no Brasil no período de 1982 a 2000, onde pode ser observado, a partir de 1996, que este número vem diminuindo.

Gráfico 1: Evolução do número de óbitos por aids no Brasil de 1982 a 2000 segundo dados do Boletim Epidemiológico (GALVÃO, 2002).



Portanto, a garantia do acesso universal e gratuito aos medicamentos anti-retrovirais é uma das chaves da resposta brasileira à epidemia de aids. E segundo a política atual, do Programa Nacional de DST e Aids, baseada na premissa de que a prevenção à aids e a assistência às pessoas vivendo com HIV/aids não podem estar dissociadas, o acesso a esses medicamentos é uma das estratégias prioritárias (MS, 2002a).

Dessa forma destaca-se a importância de uma política de medicamentos que garanta o acesso e a qualidade dos mesmos.

1.4) Política de Medicamento e Qualidade.

1.4.1) Garantindo o acesso.

A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera que:

“(…). Para assegurar uma provisão adequada de medicamentos seguros, eficazes, de boa qualidade e a um preço acessível, que seja objeto de um uso racional, cada país deve aplicar uma política farmacêutica nacional como parte integrante de sua política sanitária. (…). Por último, a política incluirá metas de desenvolvimento nacional, como a melhoria da infra-estrutura, o aumento das qualificações do pessoal quanto à gestão, à prática da farmácia e da medicina, e o fomento à produção local de medicamentos.”(OMS, aput, BERMUDEZ,1995)

Segundo Bermudez et al (2000), pela primeira vez, o Ministério da Saúde explicitou uma política de medicamentos de acordo com as diretrizes da Organização Mundial de Saúde, a partir da publicação da Portaria nº 3.916/MS/GM de 30 de outubro de 1998, que aprova a Política Nacional de Medicamentos, como parte essencial da Política Nacional de Saúde, e que apresenta como propósito principal, “garantir a necessária segurança, eficácia e qualidade dos medicamentos, a promoção do uso racional e o acesso da população àqueles considerados essenciais” (BRASIL, 1998).

Como garantir o acesso da população a medicamentos seguros, eficazes e de qualidade? Nesse sentido é evidente a necessidade de fomentar a Indústria Farmacêutica Nacional, aumentando a oferta de medicamentos, a fim de minimizar o domínio da produção por parte das multinacionais, contribuindo para queda de preços, a partir da concorrência de mercado, favorecendo assim, o acesso por parte da população. Porém existe uma parcela da população que mesmo assim não terá acesso, em face da

impossibilidade financeira de comprar os medicamentos prescritos, levando ao abandono e descontinuidade do tratamento, considerado um dos graves problemas de saúde pública (BERMUDEZ et al, 2000). Portanto o fomento a Indústria Farmacêutica Nacional deve se dar em especial nos Laboratórios Oficiais, no sentido de subsidiar a produção de medicamentos, incluindo os anti-retrovirais, a fim de atender as demandas nacionais. Segundo a Portaria nº 3.916/MS/GM (BRASIL, 1998), que aprova a Política Nacional de Medicamentos, o papel dos laboratórios oficiais “é especialmente importante no que tange ao domínio de processos de produção de medicamentos de interesse em saúde pública”, além de também favorecer o monitoramento de preços. Um estudo realizado para analisar a evolução de preços da Zidovudina (AZT), de 1998, quando teve início a sua comercialização no Brasil, até 1999, por considerar o preço um dos mais importantes fatores que interferem no acesso dos medicamentos anti-retrovirais, demonstrou uma redução, considerável de preço no mercado nacional, na ordem de dez vezes quando comparado ao salário mínimo. E conclui que, diversos fatores influenciaram essa queda, dentre eles, a produção de anti-retrovirais pelo sistema oficial de produção, ou seja, os laboratórios oficiais (OLIVEIRA et al, 2000). Para o Ministério da Saúde - Programa de DST-AIDS, atualmente, o governo gasta cerca de 575 milhões de reais com a compra de medicamentos. Se o governo estivesse importando todos os medicamentos estaria gastando cerca de 970 milhões de reais, o que tornaria o programa de distribuição gratuita e universal dos medicamentos anti-retrovirais inviável (MS, 2003). O que reforça a importância em fomentar a produção local de medicamentos em especial os laboratórios oficiais.

Importante ressaltar que garantir acesso apenas com o fomento à produção, tem alcance limitado, uma vez que na Indústria Farmacêutica Nacional predomina a dependência das matérias-primas importadas. Palácios, apud BERMUDEZ 1995, julga a indústria farmacêutica no Brasil uma pseudo-indústria, ocupada apenas em manipular matérias-primas importadas, em função da falta de uma indústria químico-farmacêutica para a produção de matérias-primas, sem instituições de pesquisa e sem pessoal técnico especializado para a permanente atualização científica. O que caracteriza uma defasagem tecnológica da indústria farmacêutica nacional.

Para um melhor entendimento quanto a essa defasagem é apresentado um pequeno comentário em relação às áreas tecnológicas em que a indústria farmacêutica atua. Considerando as diferentes atividades que compõem o processo de produção e geração de

produtos, abrangendo desde sua concepção até a comercialização, as áreas tecnológicas da indústria farmacêutica, podem ser caracterizadas em quatro estágios.

(a) Pesquisa e desenvolvimento de novos fármacos: Inclui as atividades e o conjunto de conhecimentos necessários para a geração de novos fármacos, englobando desde a obtenção, passando por análises diversas como: identificação das potencialidades da ação terapêutica, suas propriedades, verificação de toxicidade aguda, crônica, potencial teratogênico e determinação de sua dose ativa. E posteriormente, o produto, passa pelos testes farmacológicos e estudos farmacotécnicos e ensaios clínicos, antes de ser lançado ao mercado. Do ponto de vista da complexidade tecnológica, esta etapa pode ser considerada a mais complexa.

(b) Produção industrial de novos fármacos: Consiste nos estudos para a obtenção de processos em escala industrial, que compreende a otimização ou o chamado “*scale-up*” das diversas etapas, passando da bancada laboratorial para planta piloto, até elevar aos níveis em escala industrial. Envolve ainda, aspectos operacionais, econômicos e de engenharia.

(c) Tecnologia para a produção de especialidades farmacêuticas: Equivale à transformação dos fármacos em medicamentos nas suas diversas formas farmacêuticas. Este estágio se caracteriza por atividades essencialmente de formulação, portanto, o nível de complexidade que esta atividade requer é inferior aos estágios anteriores. Porém, é necessário maquinário e equipamentos que constituam uma linha de produção, acompanhados de norma de inspeção e supervisão rigorosas, além do controle da qualidade em processos e dos produtos finais, incluindo os insumos utilizados no processo produtivo.

(d) Marketing e comercialização (BERMUDEZ, 1995). Para Bermudez (1992) é lamentável que, no Brasil, apenas as duas últimas etapas podem ser consideradas na sua globalidade, o que reforça a nossa dependência externa, e o caráter incipiente do desenvolvimento tecnológico em que nos encontramos. Refletindo-se na alta dependência na importação de matérias primas da indústria farmacêutica nacional. Portanto uma das medidas necessárias para representar um salto de qualidade na Política de Medicamentos em curto prazo é favorecer o desenvolvimento da área da química fina incorporando tecnologias de produção de fármacos, e uma outra medida é considerar os medicamentos

genéricos como uma alternativa concreta para o mercado brasileiro (BERMUDEZ, 1995). Política já praticada pelo Ministério da Saúde.

Em continuação, este mesmo estudo sobre a evolução de preço da Zidovudina (AZT) concluiu que um outro fator que contribuiu para a queda no preço deste medicamento foi a internalização da produção de matéria-prima no Brasil (OLIVEIRA et al, 2000). O Laboratório Nacional produtor foi a Microbiológica Química Farmacêutica, que produziu também o medicamento AZT com preço 50 % inferior ao similar importado (BERMUDEZ et al, 2000). Demonstrando a importância de investirmos em pesquisa e desenvolvimento como uma alternativa concreta para o mercado.

Portanto no que tange à discussão do acesso aos medicamentos fica evidente a necessidade de investir tanto na indústria de formulação farmacêutica, responsável pela produção dos medicamentos propriamente ditos, como na indústria farmoquímica, responsável pela fabricação dos fármacos.

Na atual Política Nacional de Medicamentos aprovada pela Portaria nº 3.916/MS/GM de 30 de outubro de 1998 (MS, 1998), prevê “para assegurar o acesso da população a medicamentos seguros, eficazes e de qualidade, ao menor custo possível” as seguintes diretrizes:

- (a) Adoção de relação de medicamentos essenciais.
- (b) Regulamentação sanitária de medicamentos.
- (c) Reorientação da assistência farmacêutica.
- (d) Promoção do uso racional de medicamentos.
- (e) Desenvolvimento científico e tecnológico.
- (f) Promoção da produção de medicamentos.
- (g) Garantia da segurança, eficácia e qualidade dos medicamentos.
- (h) Desenvolvimento e capacitação de recursos humanos.

Como pode ser observado tanto a promoção da produção de medicamentos como o incentivo ao desenvolvimento científico e tecnológico são previstos pela Política Nacional de Medicamentos, que somados ao desenvolvimento e capacitação de recursos humanos, constituem importantes passos para combater a nossa defasagem tecnológica. Considera-se que em relação ao desenvolvimento científico e tecnológico, deve ser incentivada a integração entre universidades, instituições de pesquisa e empresas do setor produtivo, como já apontava Bermudez (1992, 1995) cuja integração poderia ser fator decisivo para elevar a escala da produção industrial. A Política Nacional de Medicamentos considera ainda que esse processo de pesquisa e desenvolvimento exigirá uma ação articulada dos

Ministérios da Saúde, da Educação e da Ciência e Tecnologia. Pode-se observar que a atual Política Nacional de Medicamentos apresenta avanços, porém é necessário que seja efetiva, que seja executada em sua plenitude, para realmente garantir o acesso de toda a população aos medicamentos considerados essenciais, incluindo os medicamentos destinados ao tratamento de patologias com impacto sobre a saúde pública como, por exemplo, já acontece com os medicamentos para aids. Principalmente num momento em que o Brasil reconhece a Lei de Propriedade Industrial, Lei de Patentes, é urgente a necessidade de investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento, em função da nossa defasagem tecnológica.

1.4.2) Base Legal.

Para garantir o acesso da população a medicamentos seguros, eficazes e de qualidade, é evidente também, a necessidade de regulamentar as atividades envolvidas na produção, comércio e distribuição de medicamentos (BERMUDEZ, 1995). Como também prevê a Política Nacional de Medicamentos.

Várias são as bases legais que visam normatizar as ações de vigilância sanitária, definida pela Lei Orgânica da Saúde, Lei nº 8080 de 19 de setembro de 1990, como “um conjunto de ações capaz de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e circulação de bens e da prestação de serviços de interesse da saúde” (BRASIL, 1990). Podemos citar a Lei nº 6.360 de 23 de setembro de 1976, que amplia as disposições anteriores vigentes (BRASIL, 1976). Chamada Lei de Vigilância Sanitária, que normatiza os atos relacionados à cadeia de produção desde a fabricação até a propaganda (ROZENFELD, 1998). Dispõe sobre o registro, autorização das empresas, responsabilidade técnica, rotulagem, embalagem, transporte, controle de qualidade e dá outras providências. Segundo Costa & Rozenfeld (2000, p. 33), “a Lei consagrou a vigilância como atividade permanente, fundamentada no controle de qualidade e atribuiu ao produtor a responsabilidade de informar sobre as reações adversas aos medicamentos”. Esta lei vigora até hoje, sendo que teve alguns artigos alterados pela Lei nº 9.787 de 10 de fevereiro de 1999, que estabelece o medicamento genérico (BRASIL, 1999b). Destaca-se também a Lei nº 5.991 de 17 de dezembro de 1973 que dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos (BRASIL, 1973). É importante lembrar que a edição dessas leis ocorreu num momento de importante revisão da legislação sanitária (COSTA & ROZENFELD, 2000).

Na década de noventa, impulsionados pelo Mercosul, criaram-se instrumentos para aprimorar a qualidade dos produtos, lançando os guias de Boas Práticas de Fabricação e os roteiros para a inspeção de indústrias de medicamentos, domissanearios e cosméticos. (COSTA & ROZENFELD, 2000). Para os fabricantes de medicamentos, o guia de Boas Práticas de Fabricação foi estabelecido pela Portaria nº 16 de 6 de março de 1995 (BRASIL, 1995). Também foi criado o Programa Nacional de Inspeção em Indústrias Farmacêutica e Farmoquímicas (PNIFF), vigente até hoje.

Segundo Costa & Rozenfeld (2000), o aperfeiçoamento da vigilância sanitária, e sua evolução normativa não foram acompanhados por transformações nas ações das três esferas do governo, tanto federal, estadual como municipal, aumentando as críticas sobre a atuação da Vigilância Sanitária no país. Surgiram assim, propostas de reformulação do seu modelo organizacional e operacional.

Ao final da década de noventa, mais precisamente em 1998, a distribuição de produtos falsificados e defeituosos, em consequência do não cumprimento das Boas Práticas de Fabricação, fragilizou tanto a imagem da instituição como do próprio segmento produtivo, impulsionando assim, a edição de muitas normas e a mudança do modelo da instituição (COSTA & ROZENFELD, 2000).

Em janeiro de 1999 é promulgada a Lei nº 9.782 de 26 de Janeiro, que cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), em substituição à Secretaria Nacional de Vigilância Sanitária, que define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária e dá outras providências (BRASIL, 1999a). Segundo a Política Nacional de Medicamentos, a criação da ANVISA representa o início de implementação desta política, e busca garantir condições para a segurança e qualidade dos medicamentos consumidos no país. A ANVISA tem editado e reeditado muitas normas (legislações), objetivando sua finalidade institucional que é a de:

“Promover a proteção de saúde da população, por intermédio do controle sanitário da produção e da comercialização de produtos e serviços submetidos à vigilância sanitária, inclusive dos ambientes, dos processos, dos insumos e das tecnologias a eles relacionados, bem como o controle de portos, aeroportos e fronteiras”.

(BRASIL, 1999a).

Segundo Bermudez et al 2000, os anos recentes foram pródigos em relação à regulamentação sobre a questão de medicamentos.

No que diz respeito à garantia da qualidade dos produtos fabricados destaca-se a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 134 de julho de 2001 (BRASIL, 2001), que revoga a Portaria SVS/MS nº 16 de março de 1995 (BRASIL, 1995), e dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação (BPF) e controle para todos os estabelecimentos fabricantes de medicamentos. A reedição desta legislação baseou-se na necessidade de atualizar as BPFs, com o objetivo de acompanhar o desenvolvimento de novas tecnologias e as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS), sobre a Certificação da Qualidade de Produtos Farmacêuticos, objeto do Comércio Internacional e por último, considerando a necessidade de padronizar as ações de vigilância sanitária (BRASIL, 2001). Cabe lembrar que a legislação referente às Boas Práticas de Fabricação foi atualizada pela Portaria nº 210 de agosto de 2003.

A RDC nº 134 de julho de 2001, atualizada pela Portaria 210, define as BPFs como a parte da Garantia da Qualidade que assegura que os produtos são consistentemente produzidos e controlados, com padrões de qualidade apropriados para o uso pretendido. Determina o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico das Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos, que contemplam todo o processo produtivo desde a aquisição de uma matéria prima até sua transformação em produto acabado. As diretrizes estabelecem os padrões vigentes para cada etapa do processo produtivo, a fim de garantir uma uniformidade na qualidade final, evitando a fabricação de produtos fora dos padrões ou defeituosos (BRASIL, 2001). Introduziu os estudos de validação, e incluiu a validação de metodologia analítica como parte essencial das BPFs, passando a ser de aplicação geral para todos os medicamentos, não apenas relacionado ao medicamento genérico, representando um avanço para a garantia da qualidade dos medicamentos produzidos no mercado nacional.

Os estudos de validação atestam, através de ato documentado, que um processo específico produzirá consistentemente um produto de acordo com as especificações pré-determinadas e atributo de qualidade (USP, 2000; BRASIL, 2001). Demonstrando que o processo produtivo é lógico e pode ser comprovado através desses estudos, e acima de tudo reproduzido, mantendo o nível de excelência da qualidade. Portanto, a validação constitui parte essencial das Boas Práticas de Fabricação, se tornando ferramenta fundamental para o controle da qualidade dos medicamentos, e em especial para o presente estudo, a validação de metodologia analítica, que permite avaliar objetivamente a qualidade dos medicamentos produzidos, a fim de garantir a segurança e eficácia dos mesmos.

Desvios na qualidade, gerando produtos defeituosos, podem expor a saúde da população a sérios riscos, portanto são de fundamental importância a constante fiscalização e o monitoramento da qualidade dos produtos farmacêuticos por parte das autoridades sanitárias.

São apresentadas de forma resumida na figura 2 páginas 17, as origens dos riscos decorrentes do uso de medicamentos.

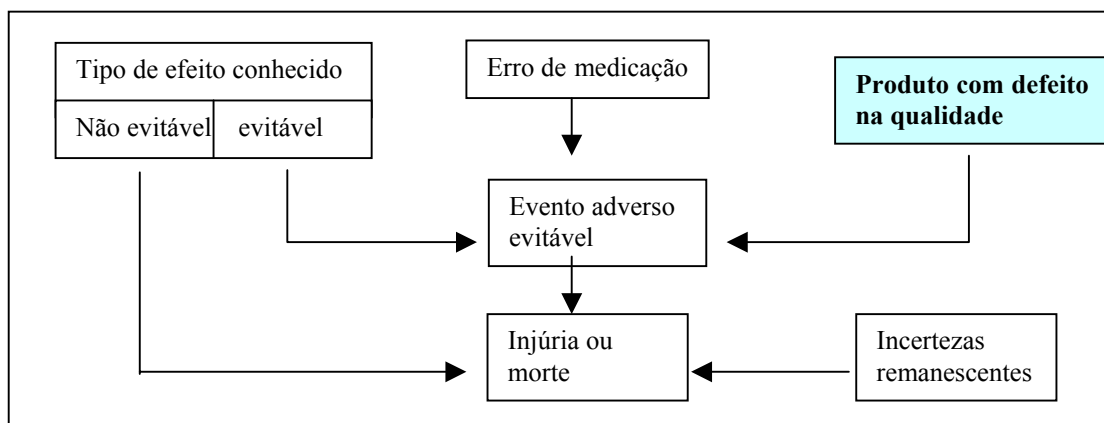


Figura 2 - Origem dos Riscos dos Medicamentos (FDA, 2000)

Várias são as origens dos riscos que podem gerar eventos adversos, destacam-se, para o presente estudo, os riscos decorrentes de produtos defeituosos, cuja qualidade está comprometida. Esses riscos podem ser controlados através do cumprimento das Boas Práticas de Fabricação, incluindo validação de metodologia analítica, do monitoramento e fiscalização por parte da autoridade sanitária.

O monitoramento da qualidade do produto distribuído no mercado, por parte da autoridade sanitária, se dá através das ações da Farmacovigilância, definida como ciência relativa à detecção, avaliação, compreensão e prevenção dos efeitos adversos ou quaisquer problemas relacionados a medicamentos (OMS, 2002 apud ANVISA 2003a).

A unidade de Farmacovigilância da ANVISA utiliza como um dos instrumentos para monitorar a qualidade dos medicamentos, a notificação de queixas técnicas, que é definida como a notificação feita pelo profissional de saúde quando observado um afastamento dos parâmetros de qualidade exigidos para comercialização ou aprovação no processo de registro de um produto farmacêutico (ANVISA, 2003b).

No formulário de notificação voluntária de suspeita de reação adversa a medicamentos, da unidade de Farmacovigilância, há um espaço destinado à notificação de queixa técnica ou suspeita de desvio da qualidade, que compreendem as alterações físico-químicas, adulterações, falsificações e problemas de rotulagem (ANVISA, 2003c).

As notificações voluntárias de queixas técnicas são fundamentais para identificar, prematuramente, fatores potencialmente nocivos ao paciente (ANVISA, 2002), e assim propor as ações de vigilância sanitária, que vão desde o recolhimento do produto no mercado até a cassação da licença de funcionamento e aplicação das penalidades previstas na legislação sanitária.

1.5) Estudos de Validação.

O tema validação de metodologia analítica foi introduzido na legislação brasileira a partir dos medicamentos genéricos, com a publicação da Resolução (RE) nº 391 de agosto de 1999, que aprovou o regulamento técnico para medicamentos genéricos, determinando validação dos métodos analíticos e do processo de fabricação, como critérios a serem seguidos para o registro e o controle da qualidade dos medicamentos genéricos. A validação da metodologia analítica foi normatizada no anexo III desta portaria, através do Guia de Validação de Métodos Analíticos (BRASIL, 1999c). Posteriormente esta resolução foi substituída pela Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 10 de janeiro de 2001, que manteve o Guia de Validação de Métodos Analíticos como anexo V (BRASIL, 2001a).

Com a publicação da RDC nº 134 de julho de 2001, que introduziu os estudos de validação como parte essencial das BPFs. O tema validação passa a ser de aplicação geral para todos os medicamentos (BRASIL, 2001b).

A RDC nº 10 foi substituída pela RDC nº 84 de março de 2002 (BRASIL, 2002a). A partir da publicação da RDC nº 84, os guias que compunham o regulamento técnico de genéricos foram desmembrados em resoluções específicas, assim, a validação da metodologia analítica passou a ser normatizada pela Resolução (RE) nº 475 de 19 de março de 2002 (BRASIL, 2002b). Podemos dizer que a validação de metodologia analítica ganha uma legislação específica, não apenas ligada ao medicamento genérico, porém esta resolução não esclarece quando devemos validar uma metodologia analítica. Lacuna que foi preenchida com a publicação da resolução nº 899 de 29 de maio de 2003, que prevê no caso de metodologia analítica não descrita em farmacopéias ou formulários oficiais, devidamente reconhecidos pela ANVISA, a metodologia deverá ser submetida aos parâmetros de validação, e após avaliação dos resultados obtidos considerada validada (BRASIL, 2003).

Portanto os estudos de validação viabilizam o desenvolvimento de novos processos, ainda não relacionados nas normas escritas dos compêndios oficiais, como a metodologia analítica proposta pelo presente estudo, favorecendo a pesquisa de novas tecnologias e

assegurando a qualidade das mesmas. Atualmente, a validação é parte integrante do Sistema de Qualidade que visa atingir o nível de excelência, tornando-se assim uma das principais ferramentas da Garantia da Qualidade.

Tendo como processo específico a ser validado pelo presente estudo, o método analítico, a validação é definida como processo pelo qual se estabelece, através de estudos laboratoriais, que as características de performance do método, também denominadas parâmetros de validação, apresentam os requisitos necessários para aplicação analítica pretendida (USP, 2000), permitindo avaliar objetivamente a qualidade dos medicamentos, garantindo a segurança e eficácia do produto farmacêutico.

Os parâmetros de validação, avaliados pelo presente estudo estão apresentados no capítulo 3, item 3.2.4 página 28, desta dissertação, que tomou como base às normas da farmacopéia americana, USP (*The United States Pharmacopeia*) e do comitê internacional de harmonização, ICH (*International Conference on Harmonization*), uma vez que apenas em 2003 foi editada uma norma brasileira específica para validação de metodologia analítica.

1.6) Didanosina.

1.6.1) Breve Histórico:

A Didanosina (ddI) foi aprovada em outubro de 1991, pela FDA (*Food and Drug Administration*) para o tratamento de pacientes adultos e pediátricos com infecção avançada pelo HIV, com intolerância ao AZT (Zidovudina) ou piorando com o uso deste (FDA, 1991). Em Outubro de 1992 é expandida a indicação, e recomendado a redução de dosagem (FDA, 1992). Em julho de 1996, é aprovada, pelo FDA, para o tratamento da infecção pelo HIV para o início do tratamento, quando a terapia anti-retroviral é autorizada.

No cenário nacional, em 1996, o Ministério da Saúde emite o primeiro Consenso Terapêutico (MS, 1996), através do qual sumariza as conclusões do Grupo de Consenso sobre Terapia anti-retroviral. Essas conclusões se constituem na revisão das recomendações para a terapia anti-retroviral publicadas pelo Ministério da Saúde em 1994. Baseia-se no tratamento inaugural com AZT e admitiam terapia combinada AZT + ddI ou AZT + ddC (Zalcitabina) diante da falha da monoterapia inicial (MS, 1996).

No que diz respeito à produção nacional dos medicamentos anti-retrovirais, o primeiro medicamento produzido no Brasil foi o AZT em 1993, pelo Laboratório

Microbiológica, empresa privada nacional. Em 1994 começa a produção estatal do AZT pelo LAFEPE (Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco). Em 1999 o Instituto Vital Brazil (IVB), empresa do Governo do Estado do Rio de Janeiro, produz a Didanosina IVB comprimidos de 100 mg, desenvolvido a partir de pesquisa interna e posteriormente comparada às formulações de outros laboratórios estatais, trocando informações e experiências. Contribuindo assim para o fortalecimento da produção estatal dos medicamentos anti-retrovirais, cuja história do desenvolvimento, particularmente da Didanosina 100 mg/comp, será apresentada no Capítulo 4 - Resultados e discussões item 4.1, pág 34.

1.6.2) Caracterização físico – química e ação farmacológica da Didanosina.

O princípio ativo Didanosina, 2',3'- dideoxiinosine também denominado ddI, é um nucleosídeo sintético análogo da inosina que encerra um hidrogênio nas posições 2' e 3' em lugar do grupamento de hidroxila (SILVA, 1998). Pertence à classe dos medicamentos antiretrovirais inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (ITRN).

A Didanosina é um pó cristalino branco cuja fórmula molecular é $C_{10}H_{12}N_4O_3$, peso molecular 236,2 e faixa de fusão 160 - 163 ° C. Tem sido preparada enzimaticamente, a temperatura ambiente, por desaminação da 2', 3'- dideoxiadenosina (ddA) usando a enzima adenosina deaminase e posterior recristalização com metanol (NASSAR et al, 1993). A ddA administrada por via oral é nefrotóxica, e por essa razão, a ddI foi desenvolvida como uma pró-droga da ddA (BALINT, 2001). Segue-se fórmula estrutural da Didanosina (ddI) e da ddA, figura 3 na página 20.

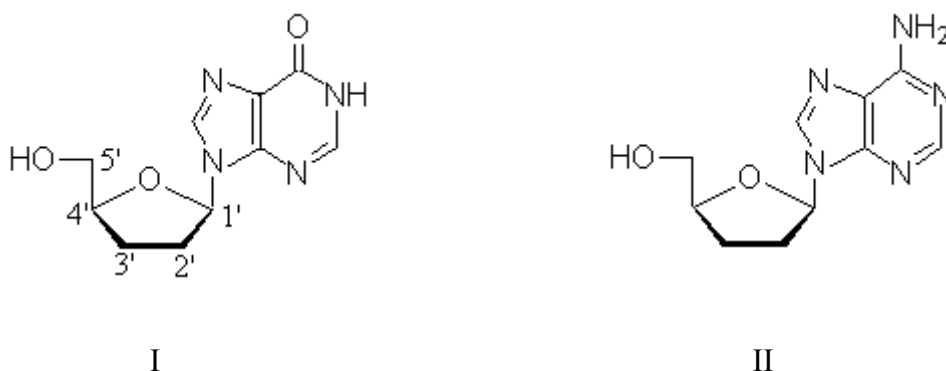


Figura 3—estrutura química da Didanosina (I) e da ddA (II).

A solubilidade da Didanosina em água a 25⁰ C e pH aproximadamente 6 é de 27,3 mg/mL, em etanol é de 1 mg/mL e em metanol é de 6 mg/mL (NASSAR et al, 1993). É altamente instável em meio ácido e completamente estável em meio básico, por exemplo, uma solução de Didanosina a 10 % em pH < 3 a 37⁰ C, se decompõe a hipoxantina em menos de dois minutos (NASSAR et al, 1993; FDA, 2002).

A hipoxantina, figura 4 página 21, é o maior produto de degradação da Didanosina, forma em pequenas quantidades quando a Didanosina é exposta a 25⁰ sobre alta intensidade de luz ou 87 % de umidade relativa (NASSAR et al, 1993).

As formulações orais de Didanosina contêm agentes tamponantes para aumentar o pH gástrico, normalmente, carbonato de cálcio e hidróxido de magnésio. As formulações que não apresentam os agentes tamponantes devem ser administradas acompanhadas de hidróxido de alumínio ou magnésio (FDA, 2002).

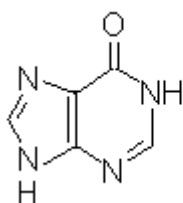


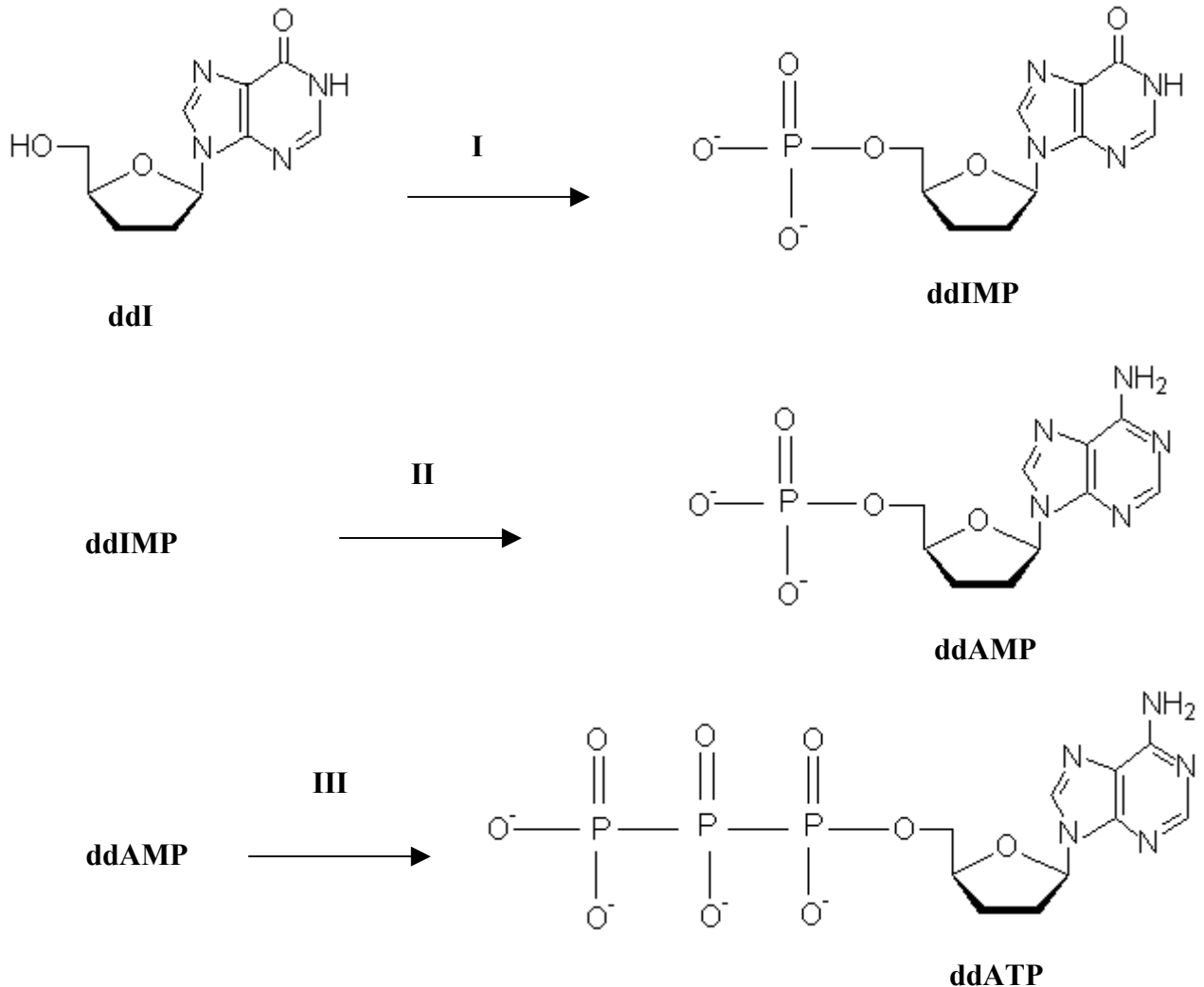
Figura 4– Estrutura química Hipoxantina.

A Biodisponibilidade da Didanosina diminui em presença de alimento. Portanto é recomendado que toda formulação de Didanosina seja administrada com o estômago vazio. Uma possível causa para essa diminuição, pode ser o aumento da secreção de ácido em presença do alimento. Pode contribuir também para esse efeito, o prolongado contato com o ácido devido a demora do esvaziamento gástrico (NASSAR et al, 1993; SILVA, 1998; BALINT, 2001).

1.6.3) Mecanismo de ação:

A Didanosina penetra nas células por difusão passiva utilizando o mesmo mecanismo que os nucleosídeos fisiológicos. Como os outros nucleosídeos análogos, três níveis de fosforilação são requeridos para a forma ativa trifosfato, portanto, sofre biotransformação intracelular originando 2', 3'- didesoxiadenosina trifosfato (ddATP) figura 5, página 23, metabólito ativo que ao inibir a transcriptase reversa, suprime a replicação do vírus HIV (NASSAR et al, 1993; FLOREZ, 1997; BALINT, 2001).

Segue-se de forma resumida no esquema 1, página 22, o mecanismo de ativação da Didanosina.



I - Inicialmente, é fosforilada em 5' monofosfato de Didanosina, ou 2',3'- dideoxiinosina - 5'- monofosfato (**ddIMP**), pela ação da fosfotransferase associada à enzima 5' nucleotidase.

II - Em seguida a **ddIMP**, é aminada transformando-se em 2',3'- dideoxiadenosina -5'- monofosfato (**ddAMP**) pela ação combinada das enzimas adenilsuccinato sintetase com a adenilsuccinato liase.

III - Posteriormente, a **ddAMP** sofre duas fosforilações subseqüentes, pela ação de uma quinase, sendo transformada em 2',3'- dideoxiadenosina-5'-trifosfato (**ddATP**) metabólito ativo (NASSAR et al, 1993; SILVA, 1998; PERRY & NOBLES, 1999; CAHOURS et al, 2000).

Esquema 1- Mecanismo simplificado da ativação da Didanosina.

O metabólito ativo ddATP inibe a enzima transcriptase por competição, com o substrato natural 2'- desoxiadenosina 5'-trifosfato (dATP), do qual é análogo, figura 5 página 23, e como finalizador do prolongamento da cadeia de DNA, sendo incorporado ao DNA viral resultando em término da cadeia de DNA pró-viral recentemente sintetizado. O ddATP causa término na cadeia de DNA pró-viral, pois não possui o grupamento hidroxila na posição 3' para a formação das pontes fosfodiéster com o nucleotídeo subsequente, necessária para o prolongamento da cadeia durante a síntese de DNA (GOODMAN & GILMAN, 1996; FLOREZ, 1997; PERRY& NOBLES, 1999).

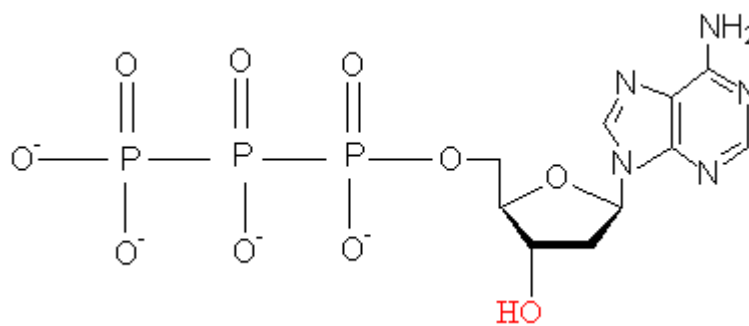


Figura 5 – estrutura química da 2'- desoxiadenosina- 5'-trifosfato (dATP) substrato natural.

A segurança e eficácia de um medicamento são fundamentais para garantir sua ação farmacológica. Nesse sentido, as Boas Práticas de Fabricação e os estudos de validação assumem especial relevância, como já discutido anteriormente, garantindo a qualidade do medicamento distribuído no mercado. Ressalta-se, portanto, a importância do presente estudo por propor validação de metodologia analítica ainda não descrita nos compêndios oficiais.

2) OBJETIVOS.

2.1) Objetivo Geral.

O estudo tem como objetivo refletir sobre a experiência de um Laboratório Oficial, à luz das Boas Práticas de Fabricação, propondo validação de uma metodologia analítica, para análise de teor, utilizada no controle da qualidade do comprimido de Didanosina 100mg, considerando-se a importância da validação, garantindo a qualidade do produto.

2.2) Objetivos Específicos.

- Refletir sobre a experiência de um Laboratório Oficial através de entrevistas gravadas, ressaltando a Política de Medicamentos.
- Propor um método analítico validado para análise de teor do comprimido de Didanosina 100 mg.

3) PARTE EXPERIMENTAL.

3.1) Reflexão sobre a experiência de um Laboratório Oficial.

O presente estudo recuperou a história da produção de medicamentos anti-retrovirais, por um Laboratório Oficial, o Instituto Vital Brazil S.A., a fim de refletir sobre esta experiência discutindo suas dificuldades e revelando as possibilidades. Para isso, baseou-se no relato oral, registrado através de entrevistas individualmente gravadas (comunicação pessoal), dos profissionais que participaram do processo de produção e da consulta bibliográfica.

3.2) Desenvolvimento e Validação da Metodologia Analítica.

3.2.1) Materiais e Reagentes.

Os equipamentos utilizados no desenvolvimento e validação da metodologia analítica foram devidamente calibrados e qualificados. Os equipamentos utilizados foram: dois sistemas cromatográficos Lachrom da marca Merk-Hitachi, compostos por bomba modelo L-7000, detector UV modelo L-7400 e injetor Rheodyne modelo 7725/i; e um sistema cromatográfico da Shimadzu série LC-10A, *Diode Array Detector* (DAD), ou seja, detector com arranjo de fotodiodos; balança analítica com quatro casas decimais da marca Sartorius.

Os reagentes utilizados apresentavam grau cromatográfico e pró-análise (P.A.). A substância química de referência (SQR) utilizada foi Didanosina SQR, Teor: 99,61 %, Lote: 15.391/00, Validade: 05/2003, fornecida pelo laboratório Cristália. Com a Didanosina SQR foi padronizada uma matéria-prima, utilizada como Padrão secundário nas análises.

3.2.2) Desenvolvimento.

O desenho experimental do presente estudo, um ensaio laboratorial fundamentado na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em fase reversa, com detecção pelo ultravioleta, tomou como base o método analítico preliminarmente utilizado, durante o processo de produção dos anti-retrovirais no Instituto Vital Brazil. A partir da experiência desde estudo inicial e do levantamento bibliográfico, deu-se o desenvolvimento do método analítico proposto. Durante este desenvolvimento foram testadas diferentes condições cromatográficas como: tipo de fase estacionária (coluna C18 e C8), proporção da fase

móvel e variação do pH da fase móvel. Sendo selecionadas as condições cromatográficas, cujo cromatograma apresentou os melhores resultados nos testes de verificação da adequação do sistema (*System Suitability test*), como: fator de cauda (T = assimetria), fator de capacidade (K') e eficiência da coluna (N = número de pratos teóricos).

Com a fase móvel do método analítico preliminar, composta de solução de acetato de sódio 0,01 M e metanol, na proporção de 85:15 (v/v) pH=6,5, foi testado diferente tipo de fase estacionária (coluna). O método preliminar utilizava coluna C18 (250 x 4mm), procedeu-se um teste com a coluna C8 (250 x 4mm), obtendo melhores resultados.

O estudo de Ravasco et al (1992) relacionava 254 nm, como o comprimento de onda de leitura, o mesmo utilizado pelo método analítico preliminar. Já no estudo de Lafuente (2002), relacionava 248 nm. Portanto o espectro UV/Visível da Didanosina foi determinado e o comprimento de onda correspondente ao máximo de absorção confirmado. Sendo utilizado para isso um cromatógrafo Shimadzu com detector, UV/Visível, com arranjo de fotodiodos (DAD). O espectro obtido é apresentado na figura 6 página 43.

Foram testadas também diferentes proporções da fase móvel, solução de acetato de sódio e metanol. As proporções testadas foram: (75:25), (85:15) e (80:20).

Outra modificação testada foi a variação de pH da fase móvel na proporção de 85:15, sendo testados os valores de pH de 6,5; 6,0 e 5,0.

No método analítico preliminar utilizava-se como diluente água ultra-pura, porém durante o desenvolvimento verificou-se que ocorria freqüentemente aumento da área referente ao pico que apresentava tempo de retenção próximo a 2,45 min, sugerindo assim degradação da Didanosina, posteriormente confirmado em literatura (NASSAR et al, 1993). Portanto, foi testada a solução de acetato de sódio 0,01 M como diluente.

Definida as condições analíticas, foi executada a validação da metodologia analítica proposta para análise de teor do comprimido de Didanosina 100 mg. O cromatograma representativo da Didanosina nas condições de análise é apresentado na figura 7 página 46. Os resultados referentes ao desenvolvimento são apresentados no Capítulo 4 - Resultados e discussões no item 4.2 página 42 desta dissertação.

3.2.3) Metodologia Analítica Proposta.

São apresentadas a seguir as condições analíticas do método proposto, a ser validado, para análise do teor do comprimido de Didanosina 100 mg.

3.2.3.1) Condições cromatográficas.

Condições cromatográficas: coluna de fase reversa C-8 (5 μ m), 250 x 4mm; temperatura ambiente; fluxo de 1,5 mL/min; comprimento de onda 248 nm; o volume injetado foi de 20 μ l; fase móvel constituída da mistura de solução de acetato de sódio 0,01 M e metanol (85:15 v/v), com pH ajustado a 6,5 com ácido acético 6N e diluente acetato de sódio 0,01 M.

3.2.3.2) Preparo da solução de acetato de sódio 0,01M.

A solução de acetato de sódio 0,01 M foi preparada pesando-se 1,4 g de acetato de sódio triidratado em um becker, dissolvendo em água ultra-pura e em seguida, transferindo cuidadosamente para balão volumétrico de 1000,0 mL e finalmente, completando o volume com água ultra-pura.

3.2.3.3) Preparo da Fase móvel.

A fase móvel, foi preparada em uma proveta de capacidade de 1000 mL, colocando-se inicialmente 850 mL da solução de acetato de sódio 0,01M, e adicionando-se em seguida 150 mL de metanol para CLAE. Essa mistura foi homogeneizada, e o pH ajustado a 6,5 com solução de ácido acético 6N. Preparada a fase móvel foi então filtrada através de membrana 0,45 μ .

3.2.3.4) Preparo do padrão.

A solução padrão foi preparada pesando cuidadosamente, cerca de 20,0mg de Didanosina padrão. Em seguida transferindo para balão volumétrico de 200,0 mL, adicionando 100 mL de solução de acetato de sódio 0,01 M, levando ao banho de ultra-som por aproximadamente 30 minutos e completando o volume com água ultra-pura, após a solução ter atingido a temperatura ambiente. Finalmente a solução foi filtrada através de membrana 0,45 μ .

3.2.3.5) Preparo da amostra.

Para o preparo da amostra, 20 comprimidos foram triturados, pesando o equivalente a 20,0mg de Didanosina para balão volumétrico de 200,0 ml. Acrescentando-se 100mL de solução de acetato de sódio 0,01 M e colocando no banho de ultra-som por aproximadamente 30 minutos. Após 10 minutos de agitação, o balão volumétrico foi retirado do banho de ultra-som e imprimiram-se movimentos circulares ao mesmo e a

parede do balão, foi lavada com pequena quantidade da solução de acetato de sódio 0,01 M, antes de retornar com o balão ao ultra-som. Essa operação foi repetida após 20 minutos de agitação. Completados os 30 minutos, o volume foi ajustado com solução de acetato de sódio 0,01 M após a solução ter atingido a temperatura ambiente. Filtrando em seguida, através de papel de filtro, desprezando os primeiros mililitros. Antes de ser injetada a amostra foi filtrada por membrana 0,45µ.

3.2.3.6) Procedimento analítico.

O procedimento seguinte foi injetar separadamente no cromatógrafo, 20µl de cada preparação (padrão e amostra), sendo no mínimo três vezes da preparação do padrão.

O cálculo de teor do comprimido deve ser executado a partir da comparação das médias das áreas dos cromatogramas dos padrões e com as áreas das amostras. Sendo a porcentagem de Didanosina calculada para cada preparação da amostra pela expressão:

$$\frac{\mathbf{Sa} \times \mathbf{Pp} \times \mathbf{Tp} \times \mathbf{PM}}{\mathbf{Pa} \times \mathbf{Sp}} = \text{mg/comp Didanosina}$$

$$\mathbf{Pa} \times \mathbf{Sp}$$

Onde,

Sa = Resposta referente a Didanosina, para cada preparação da amostra.

Pp = Peso do padrão utilizado na preparação padrão.

Tp = teor do padrão(%).

PM = Peso médio.

Pa = Peso da amostra utilizado em cada preparação amostra.

Sp = Média das respostas referentes a Didanosina na preparação padrão.

3.2.4) Validação da metodologia analítica proposta.

O presente estudo submeteu o método analítico desenvolvido aos parâmetros de validação requeridos pelo comitê internacional de harmonização, ICH (*International Conference on Harmonization*), e pela Farmacopéia Americana, USP (*The United States Pharmacopeia*), apresentados nos quadros 1 e 2, página 29.

Quadro 1 - Características requeridas para a validação pela USP

Parâmetros analíticos de performance.	Dosagem categoria I	Dosagem categoria II		Dosagem categoria III	Dosagem categoria IV
		Quantitativa	Ensaio limite		
Exatidão	Sim	Sim	*	*	Não
Precisão	Sim	Sim	Não	Sim	Não
Especificidade	Sim	Sim	Sim	*	Sim
Limite de detecção	Não	Não	Sim	*	Sim
Limite de quantificação	Não	Sim	Não	*	Não
Linearidade	Sim	Sim	Não	*	Não
Faixa	Sim	Sim	*	*	Não

* Pode ser requerido dependendo da natureza do teste especificado.

Categoria I - Quantificação do maior componente ou do ingrediente ativo.

Categoria II - Determinação de impurezas ou produtos de degradação.

Categoria III - Determinação de características de performance (dissolução etc.).

Categoria IV - Teste de identificação.

Quadro 2 - Características requeridas para a validação pelo ICH

Características analíticas de performance	Identificação	<u>Teste de Impureza</u>		Dosagem
		Quantitativa	Ensaio limite	
Exatidão	Não	Sim	Não	Sim
Precisão				
Repetitividade	Não	Sim	Não	Sim
Precisão intermediária	Não	Sim	Não	Sim
Especificidade	Sim	Sim	Sim	Sim
Limite de detecção	Não	Não	Sim	Não
Limite de quantificação	Não	Sim	Não	Não
Linearidade	Não	Sim	Não	Sim
Faixa	Não	Sim	Não	Sim

O método analítico desenvolvido para determinação do teor do comprimido de Didanosina, trata-se de um ensaio quantitativo, ou seja, dosagem do ingrediente ativo, e como podemos observar nos quadros 1 e 2, página 29, tanto a USP como o ICH requerem os mesmos parâmetros analíticos de performance, para validação do método, que são: exatidão, precisão, especificidade, linearidade e faixa. A validação deve incluir ainda, os testes de verificação da adequação do sistema, também conhecido como “*System suitability test*”.

3.2.4.1) Testes de verificação da adequação do sistema (*System suitability test*).

Os testes que verificam a adequação do sistema baseiam-se no conceito de que equipamentos, operações analíticas e amostras a serem analisadas, constituem um sistema integral que pode ser avaliado como um todo, demonstrando que o sistema cromatográfico e o procedimento analítico são capazes de produzir dados de qualidade adequada (SHABIR, 2003). Pode-se dizer que são os testes que verificam se o sistema assegura sua performance antes e durante as análises.

Antes de iniciar o processo de validação do método desenvolvido, a performance do sistema de HPLC Lachrom da marca Merk-Hitachi foi estabelecida. Para execução dos testes, solução contendo Didanosina Padrão na concentração de trabalho, 100 mcg/mL, foi preparada e analisada, nas condições cromatográficas determinadas no método analítico, item 3.2.3.1 página 27, em seguida os cromatogramas obtidos foram avaliados, segundo os parâmetros, como número de pratos teóricos (N), fator de cauda (T), fator de capacidade (K') e a repetitividade verificada pelo desvio padrão das áreas obtidas de seis repetições foi observada. Durante o processo de validação a performance do sistema foi acompanhada.

3.2.4.2) Especificidade.

É a habilidade de avaliar inequivocamente a substância de interesse na presença de componentes como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz, por exemplo, os constituintes da formulação, os excipientes, que são as matérias primas sem atividade terapêutica que entram na composição de um comprimido, demonstrando que os resultados não são afetados pela presença desses componentes. Na ausência de padrão de impurezas ou, produto de degradação pode-se provocar uma degradação forçada, submetendo a substância de interesse a condições de estresse: luz, calor, umidade, hidrólise ácido/base e oxidação (ICH, 1994; USP, 2000).

Para avaliação da especificidade do método de análise de teor do comprimido de Didanosina, procedemos como descrito a seguir:

- a) Amostras de Didanosina Padrão foram submetidas às condições de estresse como: exposição à temperatura de 100⁰ C, por uma semana; exposição à solução de ácido clorídrico 0,1N (hidrólise ácida), e à solução de peróxido de hidrogênio 3 % (oxidação), por um período de 24 horas. Ao iniciar a determinação da especificidade foram injetadas no cromatógrafo, as soluções de ácido clorídrico 0,1N e de peróxido de hidrogênio 3 %, procedendo a uma corrida em branco. Posteriormente, foram injetadas as amostras submetidas às condições de estresse e uma solução de Didanosina padrão. A partir dos cromatogramas obtidos, verificamos se o ensaio foi afetado ou não.

- b) Foi preparada solução contendo apenas os excipientes, e injetada no cromatógrafo. A partir do cromatograma obtido foi verificado se algum excipiente apresenta o mesmo tempo retenção que a Didanosina, interferindo no ensaio.

3.2.4.3) Linearidade:

A linearidade de um método analítico é a capacidade de demonstrar que as respostas obtidas são diretamente proporcionais à concentração da substância de interesse, em diferentes concentrações dentro de determinada faixa. Um mínimo de cinco concentrações é recomendado (ICH, 1994; USP, 2000). Para cromatografia de alta eficiência, as respostas obtidas são expressas em áreas.

Para o estabelecimento da linearidade, foi preparada uma solução mãe de Didanosina padrão e a partir desta, diluições a fim de obtermos soluções em cinco níveis de concentração, como recomendado em literatura. Os níveis definidos pelo estudo foram 50 %, 75 %, 100 %, 125 % e 150 %, do valor rotulado.

A análise foi conduzida com seis repetições, ou seja, injetando no cromatógrafo cada nível de concentração seis vezes.

A partir dos cromatogramas obtidos e das respectivas áreas, foi executado o tratamento estatístico dos dados e os resultados obtidos analisados, sendo apresentados no Capítulo 4, Resultados e Discussões, item 4.3 página 46, desta dissertação.

3.2.4.4) Exatidão:

A exatidão de um método analítico é a proximidade do resultado obtido, valor encontrado, pelo método analítico em relação ao valor que é aceito como verdadeiro ou de referência (valor esperado). É geralmente expressa como porcentagem de recuperação (% R) da substância de interesse. Deve ser verificada através de, no mínimo, 9 (nove) determinações contemplando o limite de variação do procedimento, ou seja, 3 (três) concentrações, baixa, média e alta, com três replicatas cada. (ICH, 1994; USP, 2000).

Para determinação da exatidão preparou-se a matriz (mistura dos excipientes da formulação) e adicionou-se a esta, Didanosina padrão nas concentrações requeridas, como demonstrado na quadro 3, página 32.

A análise foi conduzida em triplicata em cada nível de concentração estudada, com triplicata de injeção. As concentrações definidas pelo estudo foram 75%, 100% e 125% do valor rotulado. As soluções correspondentes a cada nível de concentração foram injetadas no cromatógrafo também em triplicata.

Quadro 3 - Determinação da exatidão.

Formulações	75% 75 mg/comp	100% 100 mg/comp	125% 125 mg/comp
Didanosina	15 mg	20 mg	25 mg
Excipiente	167 mg	162 mg	157 mg
Concentração P/ Análise	75 mcg/mL	100 mcg/mL	125 mcg/mL

3.2.4.5) Precisão

A precisão de um método analítico é o grau de concordância entre uma série de medidas, obtidas de múltiplas análises de uma mesma amostra homogênea, sob determinadas condições prescritas no método analítico (ICH, 1994; USP, 2000). A precisão foi avaliada nos níveis de Repetitividade e Precisão Intermediária.

A Repetitividade refere-se à precisão do método analítico, medida em condições repetitivas (mesmo analista, mesmo dia, mesmo equipamento), ou seja, sob as mesmas condições operacionais durante um curto intervalo de tempo.

A Precisão Intermediária refere-se à precisão do método analítico, medida em um mesmo laboratório sob condições diferentes: dias diferentes, equipamentos diferentes e analistas diferentes.

A precisão deve ser verificada através de, no mínimo nove determinações contemplando o limite de variação do procedimento, baixa, média e alta, com 3 (três) réplicas cada, ou por 6 (seis) determinações considerando-se a concentração média correspondente a 100 % do esperado (ICH, 1994; USP, 2000).

A Repetitividade foi conduzida efetuando análise de 6 (seis) amostras na concentração correspondente a 100% do valor rotulado, com duplicata de injeção, através da determinação do teor de Didanosina, para cada formulação farmacêutica produzida por diferentes laboratórios, num total de 03 (três), utilizando-se o método analítico.

Cada uma das formulações foi identificada como Laboratório A, Laboratório B e Laboratório C. Os resultados da repetitividade, foram avaliados através do cálculo do desvio padrão relativo (DPR) para cada determinação, sendo considerado satisfatório para o presente estudo o $DPR \leq 2\%$. Segundo a literatura consultada, o valor máximo aceitável para o DPR deve ser definido de acordo com a metodologia empregada, a concentração da amostra, o tipo de matriz e a finalidade do método, não se admitindo valores superiores a 5 % (BRASIL, 2003).

Na determinação da Precisão Intermediária, foram executados três tipos de comparações para cada uma das três formulações farmacêuticas avaliadas (Laboratório A, B e C). Na primeira comparação, as análises foram executadas por dois analistas no mesmo equipamento, ou seja, variando o analista e mantendo os demais parâmetros constantes.

Na segunda comparação, as análises foram executadas por um mesmo analista em um segundo equipamento, ou seja, variando equipamento e mantendo os demais parâmetros constantes.

Na terceira e última comparação, as análises foram executadas variando analista e equipamento simultaneamente. A avaliação dos resultados da precisão intermediária foi executada, empregando-se o teste-F de Snedecor (PHARMACOPEIAL, 2003).

4) RESULTADOS E DISCUSSÕES.

4.1) A História Contada por Quem Fez.

A História do IVB começa com o cientista Dr Vital Brazil, em 1919, quando deixou a Direção do Instituto Butantan em São Paulo e veio para o Rio de Janeiro. O Dr Vital Brazil convicto de que o Brasil necessitava de um número maior de instituições científicas, recusou o convite de Carlos Chagas para trabalhar em Manguinhos, e resolveu fundar um novo laboratório (BRAZIL, 2001).

A instituição, uma iniciativa essencialmente particular, além da pesquisa e da preparação de soros e vacinas, apresentava um novo desafio, criar uma linha de produtos para uso veterinário, que chegou a desenvolver e comercializar (BRAZIL, 2001).

Assim, o Instituto Vital Brazil nasceu a partir da pesquisa de novos produtos e da investigação na área de Ciência e Tecnologia, como empresa privada e posteriormente, em 1956, devido a problemas econômicos, passou a ser uma empresa administrada pelo Estado do Rio de Janeiro.

Atualmente, o IVB exerce atividades de pesquisa e produção de soros hiperimunes, dentre eles, soros antiofídicos, antitetânico, antiescorpiônico e antilatrodectico (soro contra o veneno da aranha viúva negra), este último desenvolvido por pesquisa interna. Produz ainda medicamentos quimioterápicos e antibióticos, para uso humano, nas diversas formas farmacêuticas. Dentre os medicamentos produzidos estão os anti-retrovirais, cuja história do desenvolvimento, particularmente da Didanosina 100 mg/comp, será apresentada a seguir.

As vidas do Instituto resumem oscilações ligadas a sua dependência de recursos ou estaduais ou federais. Sua estrutura produtiva debate-se com a falta crônica de investimentos em modernização técnico gerencial, numa conjuntura nacional recente que se caracterizou pela tentativa hegemônica de imprimir a lógica do setor privado ao setor público. Cortes promovidos nos gastos com saúde, aumento na velocidade de incorporação tecnológica e as estratégias de competição desvinculadas das políticas sociais voltadas para a equidade, comprometem políticas e programas públicos que diferentes esferas e governos vem tentando implementar.

No ano de 1997, motivada em produzir medicamentos com maior valor agregado e considerando a necessidade do Ministério da Saúde, a Diretoria do Instituto Vital Brazil S.A., empresa do governo do Estado do Rio de Janeiro, decide iniciar o desenvolvimento e produção de medicamentos anti-retrovirais, selecionando os seguintes: Lamivudina,

Didanosina, Estavudina, Zidovudina e ainda a combinação de Lamivudina com Zidovudina.

É importante ressaltar que o desenvolvimento de produtos deve ser realizado de forma planejada para evitar os problemas comuns, vividos pelas empresas, tais como:

- o processo de desenvolvimento ser baseado em tentativa e erro;
- inexistência de padrão gerencial que norteie o processo;
- o processo sofrer interrupções e inserções de sugestões ou imposições de pessoas de influência na empresa;
- o processo ser executado de forma departamentalizada, gerando truncamento de informação; e
- as ações gerenciais serem dissociadas umas das outras. (CHENG et al, 1995)

O planejamento da qualidade para o desenvolvimento do produto pode ser visto de forma ampla como constituído das seguintes etapas:

- 1) Identificar as necessidades dos clientes
- 2) Estabelecer o conceito de produto
- 3) Projetar o produto e o processo
- 4) Estabelecer os padrões-proposta
- 5) Fabricar e testar o lote piloto
- 6) Verificar a satisfação do cliente
- 7) Estabelecer a padronização final
- 8) Refletir sobre o processo de desenvolvimento (CHENG et al, 1995)

Cada etapa deve ser sistematizada de forma que retroalimente o processo, com decisões de continuidade ou não.

Traçando um breve comentário sobre as etapas para o desenvolvimento do produto, destacamos a etapa 3, onde o produto e o processo são projetados, chegando-se aos parâmetros preliminares do processo. Tais parâmetros são definidos a partir do conhecimento dos métodos de produção e de como se relacionam com as características da qualidade da matéria prima, dos produtos intermediários e do produto final. Para se estabelecer os parâmetros preliminares do processo são fabricados protótipos, que fornecem também informações necessárias para avaliar a viabilidade de fabricação. Importante ressaltar que para isso é necessário, que os protótipos sejam fabricados em condições representativas dos reais meios de produção (CHENG et al, 1995). Nesta fase, as características de qualidade, também denominadas de características técnicas do produto, são confirmadas e as consideradas críticas em termos de garantia da qualidade

identificadas, favorecendo o controle em escala industrial. E assim o processo deixa de basear-se em tentativas e erro.

Na etapa seguinte (etapa 4), ocorre a revisão do projeto do produto, onde o processo de fabricação é detalhado. A partir daí o lote-piloto é produzido, na etapa 5, e os padrões são detalhadamente revisados para serem transferidos definitivamente para a produção.

Portanto na etapa 7, a padronização final do processo é estabelecida. O projeto final do produto e do processo é revisado e a produção em série preparada. Pode-se dizer que inicia então a etapa mais crítica do processo de desenvolvimento, pois o ponto mais problemático está na passagem da informação do desenvolvimento para a produção (CHENG et al, 1995). O objetivo final é instruir a produção desde a etapa do lote-piloto, possibilitando que os problemas de qualidade que surgirem, sejam previamente analisados e as providências tomadas antes da produção em série. Buscando o enfoque do tipo solução antecipada, evitando que a solução dos problemas ocorra após o lançamento.

A padronização final diz respeito tanto aos padrões de produto, que especificam o produto propriamente dito, a matéria-prima e os insumos, como também aos padrões de procedimentos, relacionados aos processos produtivos (CHENG et al, 1995). Portanto a empresa deve ter um bom nível de padronização, através da implementação do sistema da garantia da qualidade aplicado à fabricação de medicamentos, com as normas gerais, procedimentos operacionais, procedimentos analíticos e manual da qualidade, para não correr o risco de ter desenvolvido um produto e não conseguir manter a qualidade ao produzi-lo. É necessário que a empresa tenha implementado as Boas Práticas de Fabricação (BPF).

Na etapa 8, um programa de produção é montado, as informações dos clientes são analisadas e o processo avaliado como um todo.

Portanto, o planejamento da qualidade para o desenvolvimento de produtos possibilita eliminar os desperdícios e implementar melhoria na qualidade e na produtividade, evitando reprocessos.

Em julho de 1997, a equipe de técnicos do controle de qualidade e da produção, começou a estudar a formulação e as matérias-primas que seriam utilizadas na fabricação. Para desenvolver a formulação, os técnicos basearam-se nas bibliografias enviadas pelos fornecedores de matéria-prima, fazendo um estudo, e balanceando a fórmula utilizando para isso os conhecimentos da tecnologia farmacêutica. Como pode ser observado no depoimento da Diretora Industrial.

“(...) apesar da gente não ter desenvolvimento de produto, nós começamos na própria produção, juntamente com o auxílio do controle de qualidade”.

[Entrevistado Diretora Industrial - Comunicação pessoal]

Segundo a Diretora Industrial no período, no início do desenvolvimento, na tentativa de realizarem um trabalho em conjunto, houve um breve contato do IVB com o LAFEPE (Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco) e com o IQUEGO (Instituto Químico do Estado de Goiás), porém os técnicos não chegaram a se reunir, ou seja, não se concretizou uma parceria. Na sua avaliação, o processo do desenvolvimento até a fabricação, foi muito corrido.

“Porque não tinha aquela história de ficar na teoria não. (...) desenvolveu, tá no papel (...) então agora vamos chamar o controle pra gente colocar a mão na massa. E aí houve integração com o controle de qualidade, e começamos”.

[Entrevistado Diretora Industrial - Comunicação pessoal]

Para a mesma Diretora, quem contribuiu bastante nesse processo foi o Laboratório Microbiológica, empresa de capital nacional, fornecedora da Lamivudina e Estavudina matéria-prima, principalmente no que diz respeito ao controle de qualidade.

E assim as formulações foram desenvolvidas e os registros solicitados, junto ao Ministério da Saúde. A Didanosina teve seu registro, como medicamento similar, iniciado em 22 de outubro de 1997, e aprovado em 28 de dezembro de 1998.

Com a formulação desenvolvida foi elaborada a Ficha Técnica e enviada para a produção, especificamente para o setor de granulação. Iniciou-se então o processo de fabricação da Didanosina. O primeiro lote produzido, data de julho de 1999, com um total de 63 lotes produzidos neste ano. Destaca-se que no momento em que foi lançada, a Didanosina do IVB respondeu a várias reclamações dos usuários (clientes) sobre o tamanho dos comprimidos. Desta primeira interação resultou a adaptação de tamanho dos comprimidos, diminuindo-se as dimensões dos mesmos. Atendendo à necessidade do cliente como previsto na etapa 1 do planejamento da qualidade, segundo Cheng et al (1995).

O IVB não possui um setor para o desenvolvimento de produtos, portanto não foi possível dimensionar os pontos críticos do processo para melhor controlá-lo em escala industrial. Como já descrita na etapa 3 do planejamento da qualidade, segundo

Cheng et al (1995). Portanto, a análise do processo como um todo, foi sendo executada à medida que se produzia. E assim as dificuldades e os problemas que surgiram durante o mesmo, foram solucionados em meio à produção. Esta simultaneidade dificulta a ação corretiva, baseada principalmente em tentativa e erro, como pode ser constatado pelo depoimento do Encarregado do Setor de Granulação.

“Você que trabalha que tem que dar o jeito”

[Entrevistado Encarregado do Setor de Granulação - Comunicação pessoal]

Pode ser citada como evidência das dificuldades enfrentadas pela equipe técnica, a necessidade de reprocessar alguns lotes por problemas apresentados no teste de dissolução. O reprocesso implica em um maior tempo de produção, conseqüentemente, no aumento dos custos do processo produtivo, como também, a possibilidade de expor o produto a um risco maior de desvio da qualidade. Portanto, para minimizar essa possibilidade, o reprocesso deve ser executado segundo protocolo previamente definido e aprovado pelo sistema da qualidade, sendo assim controlado. Este fato ilustra o que fora anteriormente abordado, ou seja, a necessidade de se planejar o desenvolvimento de produtos a fim de eliminar desperdícios e evitar reprocessos.

No início do ano de 2000, chegaram até a equipe de técnicos, queixas de usuários que relatavam que a Didanosina produzida pelo IVB deixava uma sensação de “areiazinha” na boca após ingestão do comprimido. Uma outra queixa relatada se referia à dificuldade de desintegração da Didanosina IVB. Para dimensionamento do problema, o IVB solicitou ao seu controle de qualidade que procedesse a realização do teste de controle, incluindo desintegração, dissolução e dureza de todos os lotes produzidos naquele ano. Ao mesmo tempo, solicitou a realização destes testes por laboratório independente, como o da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, no sentido de viabilizar comparação com resultados internos. Paralelamente, a equipe de técnicos do IVB não poupou esforços no sentido de melhorar a desintegração do produto, tomando-se em consideração que características clínicas do paciente com aids, dificultam a utilização de comprimidos mastigáveis, portanto usualmente eles submetem o comprimido à dispersão em água antes de ingeri-lo.

Frente aos problemas apresentados, em 2000, a formulação foi analisada e modificada a partir da substituição de excipientes, a fim de atender à padronização estabelecida, bem como, às necessidades dos usuários (clientes). Novos testes foram

realizados e os problemas resolvidos. Posteriormente foi notificada para a ANVISA a mudança da formulação.

As metodologias analíticas chegaram até os técnicos do controle de qualidade inicialmente por meio dos fornecedores de matéria prima, e posteriormente de outros Laboratórios Oficiais. Da discussão e após avaliação dos métodos apresentados, foi selecionado um método já utilizado por um outro Laboratório Oficial.

“Nós fizemos algumas adaptações do método, quer dizer nós testávamos. (...) testava o método no nosso cromatógrafo. E fazia (...), pequenas variações de fluxo, temperatura, (...) esses parâmetros, para ver se o método se adaptava. (...) Acabamos implantando esse método aqui e obtendo bons resultados”.

[Entrevistado Chefe do Controle de Qualidade - Comunicação pessoal]

Uma vez selecionada a metodologia analítica, foi então implantada. No ano de 2000, a nova Diretoria, que tomou posse em janeiro de 1999, pretendia registrar a Didanosina como medicamento genérico. Segundo a legislação que regulamentava os genéricos na época, a Resolução 391 de agosto de 1999 (BRASIL, 1999c), a validação dos métodos analíticos é um dos critérios para o registro e controle da qualidade dos medicamentos genéricos. Iniciou-se então o processo de validação da metodologia utilizada para análise de teor, com base na referida resolução.

Além disso, para o registro como genérico a empresa deve comprovar a equivalência farmacêutica e a bioequivalência em relação ao medicamento de referência: A equivalência farmacêutica diz respeito aos testes relacionados à identidade, dosagem, pureza, potência, uniformidade de conteúdo, tempo de desintegração e velocidade de dissolução, quando for o caso (BRASIL, 1999c). Um medicamento considerado equivalente farmacêutico cumpre com essas especificações, quando comparado ao referência.

A bioequivalência é avaliada a partir do teste de biodisponibilidade, que indica a velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo em uma forma de dosagem, a partir de sua curva concentração/tempo na circulação sistêmica ou sua excreção na urina. Portanto, medicamento bioequivalente, são equivalentes farmacêuticas ou alternativas farmacêuticas que, ao serem administrados na mesma dose molar, nas mesmas condições experimentais, não apresentam diferenças estatisticamente significativas em relação a biodisponibilidade (BRASIL, 1999c).

Amostras de três lotes consecutivos do produto Didanosina 100 mg/comp, foram submetidos ao estudo de equivalência farmacêutica, na Universidade Federal de Minas Gerais e de Bioequivalência, no Hospital do Câncer no Rio de Janeiro no ano de 2000. Importante ressaltar, que os lotes enviados para os referidos estudos foram produzidos após a mudança da formulação discutida anteriormente. A Didanosina IVB, foi considerada equivalente farmacêutico e bioequivalente em relação ao medicamento referência, comprovando assim a qualidade do medicamento produzido.

Como já dito, o Instituto Vital Brazil não possui um setor de desenvolvimento de produtos. Assim, qualquer inovação na produção, deve solucionar seus problemas em escala de produção e pós-lançamento, não sendo possível, praticar o enfoque do tipo solução antecipada, como descrito na etapa 7 do planejamento para qualidade segundo Cheng et al (1995). Portanto, é fundamental ressaltar o esforço, dedicação e compromisso dos técnicos envolvidos nesse processo, cujo desempenho quase artesanal, se esforçam para produzir com qualidade. Tanto as atividades da produção como o controle da qualidade, no sentido de garantir a qualidade do produto, são intensamente calcados na capacidade técnica desses profissionais, e eminentemente informal desenvolvem atividades em rede:

“(....) é muito interessante pra gente valorizar a nossa capacidade como Laboratório Oficial de desenvolver um produto. Porque no início foi colocado (...), que a gente não tinha condição de fazer isso, entendeu. E nós mostramos que, lógico com parcerias entre os vários Laboratórios Oficiais e entre os fornecedores de matéria-prima, mas que com desenvolvimento interno de tecnologia, de formulação, a gente conseguiu fazer um medicamento que posteriormente foi aprovado em equivalência farmacêutica, bioequivalência.”.

[Entrevistado Chefe do Controle de Qualidade - Comunicação pessoal]

No que diz respeito à troca de informações, principalmente, com os laboratórios oficiais, baseada na informalidade institucional, é dependente das relações pessoais entre os técnicos, ficando submetido à vontade de cada um trocar ou não tais informações. Esse intercâmbio é bastante frágil. Dessa forma, é importante que se construa uma rede sistematizada e institucionalizada de troca de informações, para dar prosseguimento a construção do conhecimento. Além disso, é necessário que se possa retornar à instituição que forneceu a informação, o resultado obtido a partir da sua aplicação, bem como, as

melhorias possíveis, favorecendo a construção coletiva do conhecimento. Portanto, para se construir essa rede sistematizada e institucionalizada de troca de informações, é necessário que os laboratórios oficiais se reconheçam realmente como pares nesse processo.

Em síntese, pode-se dizer que o desenvolvimento de produto envolve várias atividades e conhecimentos específicos. Há um caminho a ser percorrido, que vai desde a concepção até a produção em escala industrial, constituindo assim, as etapas do processo que formam uma base teórica sobre a qual um produto é desenvolvido, exigindo para isso capacitação tecnológica para a incorporação das novas tecnologias. Portanto o grande desafio que se apresenta, principalmente para os técnicos dos laboratórios oficiais, é passar da teoria a prática, uma vez que, existe uma grande lacuna a ser preenchida, ou seja, a defasagem tecnológica vivida por alguns desses laboratórios e falta de estrutura.

Dessa forma num mundo de alta tecnologia, exigindo respostas cada vez mais rápidas, uma sobrecarga recai sobre esses técnicos, que apesar de ainda não dispor de toda tecnologia necessária, se vêm obrigados a dar respostas com a mesma rapidez, segurança e eficácia exigidas para o processo. Frente a isso, buscam práticas alternativas, como por exemplo, a experiência vivida pelo Instituto Vital Brazil, ou seja, onde os técnicos sabendo o recomendado, fizeram o possível, sem perder de vista seu objetivo final, ou seja, produzir medicamentos com qualidade, cuja segurança e eficácia estejam asseguradas. Ressaltamos que este estudo não incluiu uma das dimensões deste processo, ou seja, o impacto deste modo de fazer nos custos de produção essencial para uma análise mais abrangente do ponto de vista da gerência. Entretanto, podemos adiantar que a produção centrada no fator humano implica para este conjunto de trabalhadores uma sobrecarga, uma vez que qualquer perda na qualidade e segurança é de sua estrita responsabilidade. Assim, não podemos conceber que técnicos de Instituições como o Instituto Vital Brazil, com o legado histórico que possui na área de ciência e tecnologia, ainda tenham que desempenhar suas atividades quase que artesanalmente.

Ainda que a Indústria Farmacêutica no Brasil, e inserido nesta encontram-se os Laboratórios Oficiais, se ocupe principalmente das etapas tecnológicas de produção e do marketing, como já apresentado nesta dissertação no item 1.4.1, na página 12, é importante destacar que mesmo a etapa de produção, ou seja, a indústria da formulação, é uma área que também requer tecnologia, necessitando de investimentos para uma constante atualização e modernização, tanto de equipamentos como de procedimentos, a fim de atender às normas, legislação sanitária, cada vez mais exigentes. Atualmente não estar em conformidade com as BPFs, significa não registrar, não renovar registro, e em última

análise, a possibilidade de paralisar suas atividades. E entendendo que, o desenvolvimento de produtos é uma das etapas na cadeia produtiva, é urgente o investimento nos laboratórios oficiais, a fim de modernizar o seu parque industrial, bem como o desenvolvimento das tecnologias das formulações, e de gerência dando-lhes reais condições de alcançar níveis de eficiência e competitividade.

Portanto, por uma questão de sobrevivência, é mais que urgente a necessidade de se concretizar o que já é previsto em uma das diretrizes da Política Nacional de Medicamentos do Ministério da Saúde, ou seja, a implementação de mecanismos que possibilitem a modernização dos sistemas de produção para os laboratórios oficiais. Não adianta apenas regulamentar as atividades de produção de medicamentos, sem efetivamente implementar uma política concreta de investimentos, que viabilize aos Laboratórios Oficiais cumprir com a legislação sanitária vigente.

4.2) Desenvolvimento da metodologia analítica.

Como já apresentado na metodologia, item 3.2.2 página 25, foram selecionadas as condições cromatográficas, que apresentam os melhores resultados nos testes de verificação da adequação do sistema (*System Suitability test*), como: fator de cauda (T = assimetria), fator de capacidade (k') e eficiência da coluna (N = número de pratos teóricos), tomando como base os valores relacionados na quadro 4, página 42.

Quadro 4 - Parâmetros e recomendações para o teste de verificação da adequação do sistema

Parâmetros	Recomendações
Fator de capacidade (k')	O pico deve estar bem resolvido de outros picos e do volume morto $k' > 2,0$.
Repetitividade	É desejável um DPR $\leq 1\%$ para um n° de injeções ≥ 5
Tempo de retenção relativo	Não é essencial se a resolução é declarada
Resolução (R_s)	$R_s > 2$ entre o pico de interesse e o potencial interferente que elui mais próximo
Fator de cauda (T)	$T \leq 2$
Número de pratos teóricos (N)	Em geral deve ser > 2000

Inicialmente são apresentados os resultados referentes à modificação da coluna cromatográfica, na tabela 1 página 43.

Tabela 1 – Resultado obtido com colunas cromatográficas diferentes.

Coluna cromatográfica	T	k'	N
C18	1,63	8,93	1969
C8	1,27	9,76	5175

T=Fator de cauda ou assimetria; k'= Fator de capacidade; N - Número de pratos teóricos.

Como pode ser observado na tabela 1, página 43, a coluna cromatográfica C8, apresentou menor fator de cauda, maior fator de capacidade e número de pratos teóricos significativamente maior, ou seja, conferiu melhores resultados nos testes de adequação do sistema de acordo com os valores recomendados na quadro 4, página 42, portanto foi a coluna de escolha.

É apresentado a seguir o espectro o espectro UV/Visível da Didanosina nas condições cromatográficas, e o comprimento de onda correspondente ao máximo de absorção confirmado em 248 nm, figura 6, página 43.

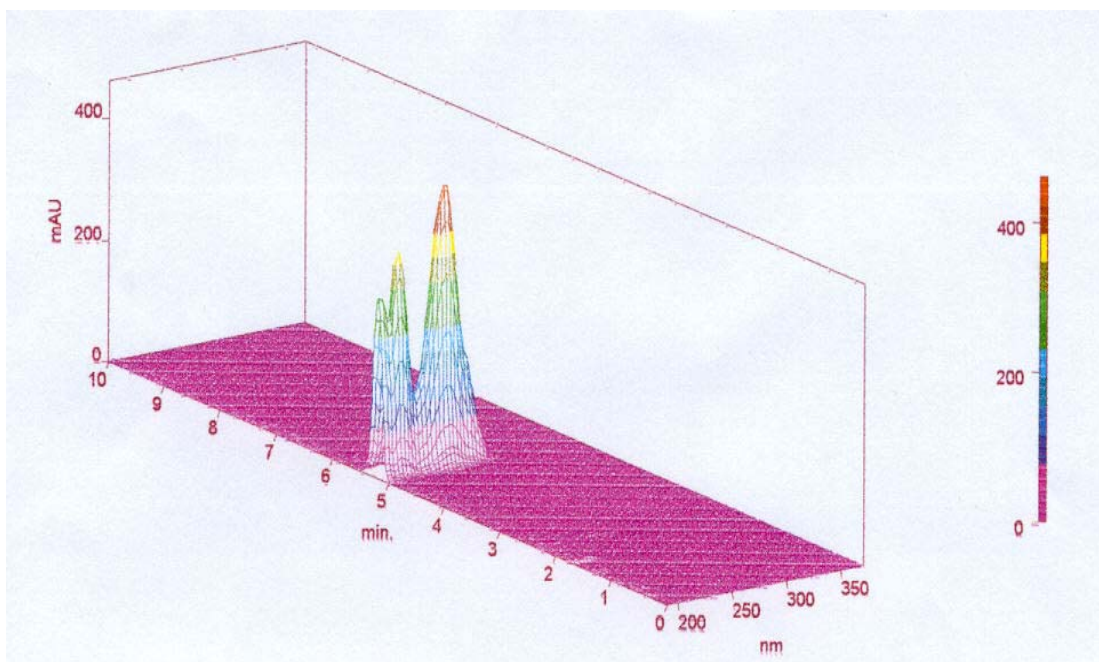


Figura 6 - Espectro UV/Visível da Didanosina nas condições cromatográficas, $\lambda_{\text{máx}}$ 248 nm.

Os resultados referentes à variação na proporção da fase móvel são apresentados na tabela 2 página 44, onde é observado que a fase móvel acetato de sódio 0,01 M e metanol na proporção 85:15 respectivamente, possui menor fator de cauda, maior número de pratos teóricos e um significativo aumento do valor de capacidade, sendo, portanto mantida a proporção de 85:15.

Tabela 2 – Resultados referentes à variação proporção da fase móvel.

Proporção da fase móvel	Rt	T	k'	N
75:25	2,93	1,51	4,87	3320
80:20	3,79	1,39	6,58	4055
85:15	5,32	1,27	9,65	5249

Rt = tempo de retenção; T=Fator de cauda ou assimetria; k'= Fator de capacidade; N - Número de pratos teóricos.

No que tange à variação do pH da fase móvel, tabela 3 página 44, nenhuma diferença significativa nos parâmetros de adequabilidade do sistema foi observada, sendo, portanto mantido o pH 6,5 em função da instabilidade apresentada pela Didanosina em pH ácido.

Tabela 3 – Resultados referentes à variação de pH da fase móvel (85:15).

pH	Rt	T	k'	N
5,0	5,44	1,29	9,88	5208
6,0	5,45	1,28	9,89	5252
6,5	5,38	1,28	9,77	5165

Rt = tempo de retenção; T=Fator de cauda ou assimetria; k'= Fator de capacidade; N - Número de pratos teóricos.

A solução padrão no diluente, acetato de sódio 0,01 M, demonstrou-se estável por um período de 24 horas. Sendo esta avaliação realizada através da comparação das concentrações percentuais (teor %) obtidas a partir de injeções desta solução em diferentes períodos de tempo, expressos na tabela 4 página 45. A comparação foi realizada a partir do cálculo de ANOVA, utilizando a distribuição F, onde a hipótese nula é de que não haja diferença significativa entre as áreas. Para que a hipótese nula seja aceita, o valor de

F- calculado deve ser menor que F-crítico ou tabelado. O cálculo da ANOVA é apresentado na tabela 5, página 45.

Tabela 4 – Resultados do teor obtido em diferentes períodos de tempo – estabilidade.

Injeções	Teor %	Teor %	Teor %
	0:00 h	5:00 h	24:00 h
1 ^a	100,00	99,53	100,11
2 ^a	100,35	99,70	99,72
3 ^a	100,07	100,08	99,71
DPR	0,19	0,28	0,23

Tabela 5 – Cálculo da ANOVA para estabilidade.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	F crítico
Entre grupos	0,23	2	0,11	2,07	5,14
Dentro dos grupos	0,33	6	0,06		
Total	0,56	8			

gl = graus de liberdade; SQ = soma quadrática; MQ = média quadrática; F = F estatístico calculado.

Pode ser observado na tabela 5 página 45, que o valor de F- calculado é menor que F- crítico, permitindo concluir que não há diferença significativa entre as injeções da solução padrão em diferentes períodos de tempo, apresentadas na tabela 4 página 45, e portanto que a solução permanece estável por um período de 24 horas, não observando nenhuma variação significativa no teor da Didanosina.

O cromatograma representativo da Didanosina na concentração de 100 mcg/mL, nas condições de análise é apresentado na figura 7 página 46, onde o fator de cauda (T) é 1,31; o número de pratos teóricos (N) é 5341 e fator de capacidade (K') é 9,39, e a repetitividade, verificada pelo desvio padrão relativo a seis injeções, foi inferior a 1 %.

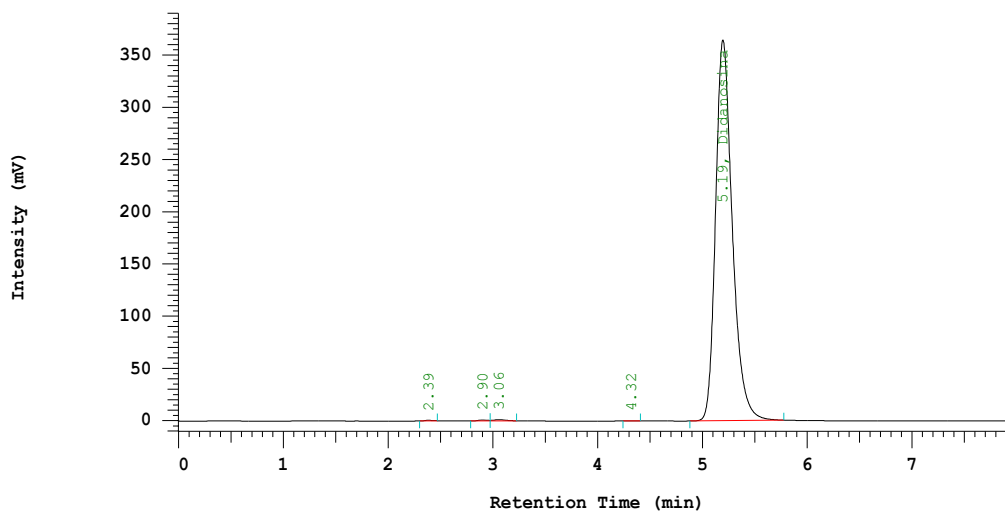


Figura 7 - cromatograma obtido nas condições de análise.

4.3) Validação da Metodologia Analítica:

Para a execução dos cálculos e do tratamento estatístico dos resultados da validação o presente estudo utilizou o software Excel.

4.3.1) Especificidade.

Os resultados obtidos na avaliação da especificidade do método analítico demonstraram que nenhum componente, como impurezas, produto de degradação ou excipientes, possuem o mesmo tempo de retenção da Didanosina, portanto não interferindo na análise. Os cromatogramas obtidos estão apresentados nas figuras 8, 9 e 10 nas páginas 47 e 48 respectivamente.

Pode-se observar na figura 8 página 47, que após submeter a Didanosina, na concentração de trabalho, ou seja, 100 mcg/mL, à temperatura de 100^o C, apresenta-se um produto de degradação no tempo de retenção de 2,48 min, não interferindo na análise da Didanosina.

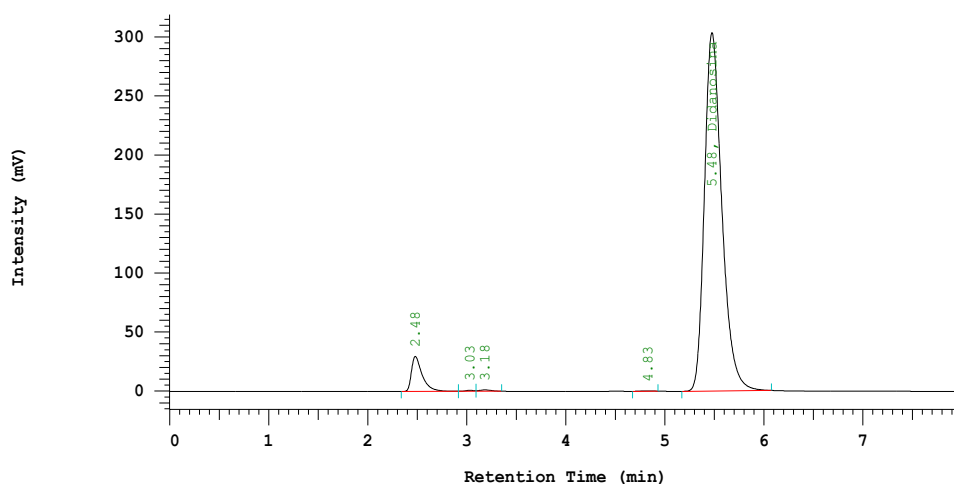


Figura 8 - Cromatograma obtido após exposição à temperatura de 100⁰ C.

Pode-se observar na figura 9 página 47, que após exposição a Didanosina, na concentração de trabalho, ou seja, 100 mcg/mL, à solução de ácido clorídrico 0,1N, apresenta-se um produto de degradação no tempo de retenção de 2,49 min e que não interfere na análise da Didanosina. Observa-se também que a Didanosina foi degradada a níveis não detectáveis, confirmando assim a alta instabilidade da Didanosina em meio ácido, uma vez que no tempo de retenção referente a Didanosina, observar figura 7 página 46, não foi detectado nenhum sinal.

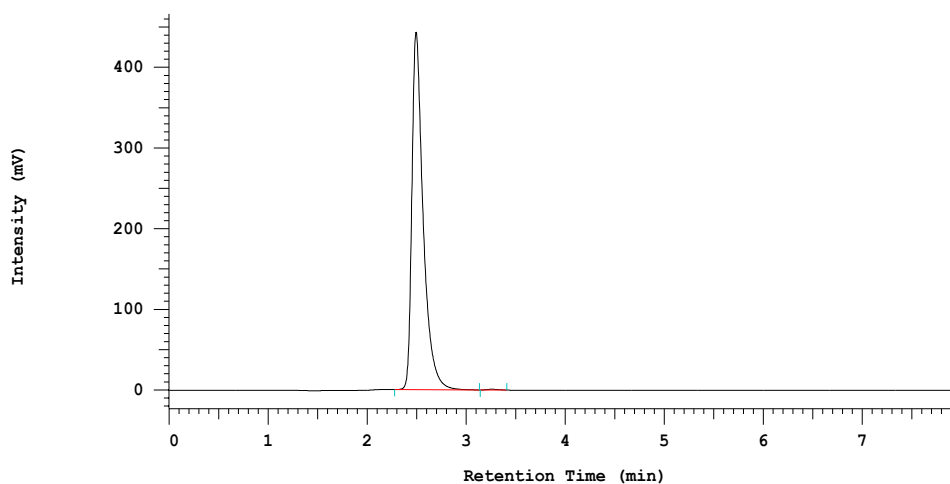


Figura 9 - Cromatograma obtido após exposição à solução de ácido clorídrico 0,1N.

Pode-se observar neste cromatograma, figura 10 página 48, após submeter a Didanosina, na concentração de trabalho, ou seja, 100 mcg/mL, à solução de peróxido de hidrogênio 3 %, um produto de degradação no tempo de retenção de 2,51 min, não interferindo na análise da Didanosina. A substância que sai no início do cromatograma, no tempo de 1,62 min, é referente ao peróxido de hidrogênio 3 %.

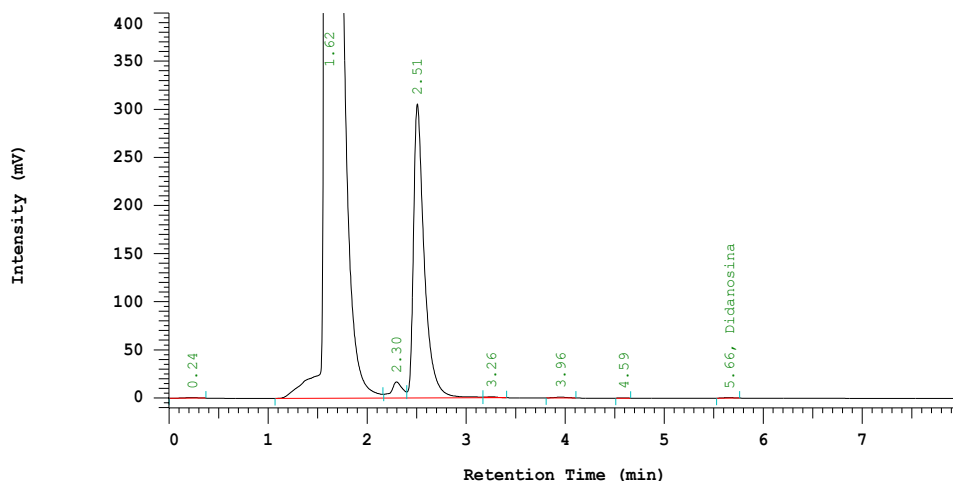


Figura 10 - Cromatograma obtido após exposição à solução de peróxido de hidrogênio 3 %

Após análise da solução contendo apenas os excipientes, observou-se que nenhum excipiente interfere na análise da Didanosina, pois o cromatograma no comprimento de onda determinado, não apresentou nenhuma substância identificada no tempo de retenção da Didanosina.

Nas figuras 8, 9 e 10 nas páginas 47 e 48 respectivamente, pode-se observar que no tempo de retenção próximo a $2,50 \pm 0,05$ minuto, a presença de um produto de degradação nas três condições de estresse as quais a Didanosina foi submetida. Segundo dados de bibliográficos o maior produto de degradação da Didanosina é a Hipoxantina, quando a Didanosina é exposta a 25° sobre alta intensidade de luz ou 87 % de umidade relativa, à hidrólise em soluções ácida e aquosa, portanto foram injetadas separadamente uma solução contendo apenas Hipoxantina, figura 11 página 49, e uma solução de Didanosina na concentração de trabalho, ou seja, 100 mcg/mL, contaminada com Hipoxantina, figura 12 página 49, e verificou-se assim que o produto de degradação que apresenta tempo de retenção próximo a 2,50 minutos, nestas condições analíticas, trata-se da Hipoxantina, cuja presença não interfere na análise da Didanosina.

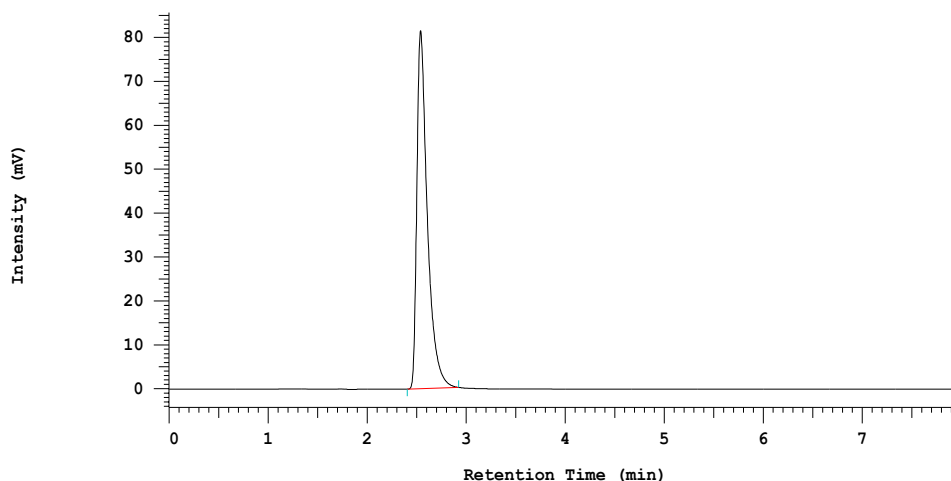


Figura 11 - Cromatograma após injeção da solução de hipoxantina.

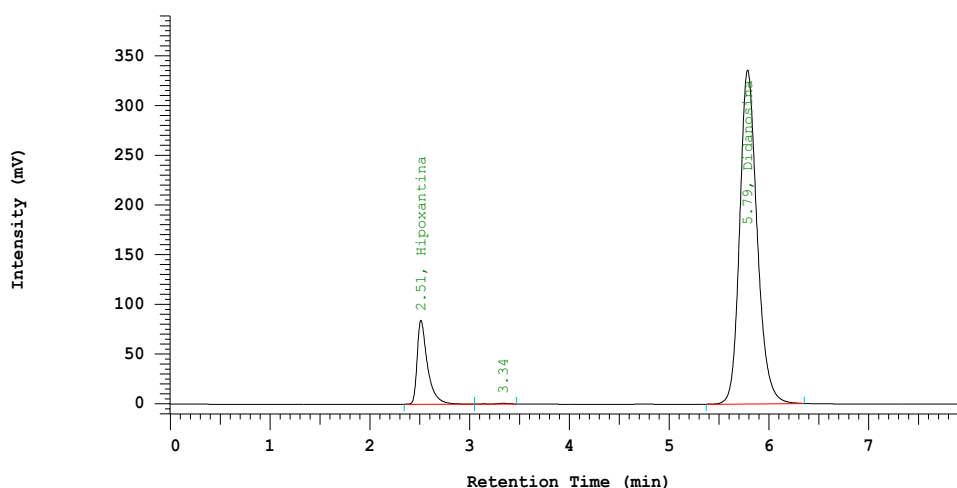


Figura 12 - Cromatograma obtido após injeção da solução de Didanosina contaminada com hipoxantina, R= 13,51.

Portanto o método analítico apresentou habilidade de avaliar inequivocamente a substância de interesse, Didanosina, na presença de componentes como impurezas, produtos de degradação e os excipientes, ou seja, foi satisfatório quanto ao parâmetro especificidade.

4.3.2) Linearidade.

A linearidade foi então demonstrada a partir da elaboração da curva de calibração (gráfico das respostas, eixo Y, em função da concentração, eixo X), onde y é a variável dependente que corresponde à resposta medida (área da Didanosina no cromatograma) e x é a variável independente que corresponde à concentração da Didanosina Padrão, utilizada

na análise. Para elaboração da curva de calibração, as áreas foram transformadas em concentração percentual para facilitar a interpretação dos resultados, apresentadas na tabela 6 página 50.

Tabela 6 – Apresentação das concentrações obtidas correspondentes a cada nível.

	Padrão 50 %	Padrão 75 %	Padrão 100 %	Padrão 125 %	Padrão 150 %
Replicata 1	49,94	75,10	100,18	124,35	148,43
Replicata 2	49,88	75,00	100,07	124,31	148,44
Replicata 3	49,99	75,14	99,78	124,15	148,25
Replicata 4	49,96	73,23	99,95	124,04	148,26
Replicata 5	49,99	75,00	99,93	124,43	148,23
Replicata 6	49,99	75,09	100,10	124,30	148,19

Antes da elaboração da curva de calibração, iniciou-se o tratamento estatístico dos dados, apresentado a seguir.

4.3.2.1) Determinação de valores aberrantes:

Avaliando os resultados obtidos na linearidade, expressos na tabela 6 página 50, suspeitou-se que a concentração de **73,23 %**, referente à concentração do Padrão a 75 %, representava um valor aberrante. Foi realizado o teste de Grubbs para o nível de significância p de 0,05. Este teste é aplicado quando se deseja verificar se o menor valor ou maior valor é aberrante.

Segue a fórmula para o cálculo.

$$G = (y_{ij} - y) / s_{ij}$$

Onde :

y_{ij} = valor suspeito de ser aberrante

y_i = média dos valores obtidos para uma determinada concentração i

s_{ij} = desvio padrão dos valores obtidos (DP)

Se G calculado < G tabelado valor suspeito não é considerado aberrante.

Se G calculado > G tabelado valor suspeito é considerado aberrante

G tabelado para o nível de significância p de 0,05 é igual **1,72**

Na tabela 7 página 51, é apresentado o cálculo da média das áreas e o desvio padrão, incluindo o valor suspeito de ser aberrante.

Tabela 7 – Apresentação dos cálculos de média e desvio padrão para determinação do valor aberrante.

	Áreas do Padrão 75 %
Replicata 1	75,10
Replicata 2	75,00
Replicata 3	75,14
Replicata 4	73,23
Replicata 5	75,00
Replicata 6	75,09
Média	74,76
DP	0,75

A partir dos valores expressos na tabela 7 página 51, onde:
 valor suspeito de ser aberrante, $y_{ij} = 73,23$
 média dos valores obtidos, $y_i = 74,76$
 desvio padrão (DP), $s_{ij} = 0,75$, e aplicando a fórmula para o cálculo de G obtemos como resultado o valor de **2,04**. Como G calculado (**2,04**) é maior que G tabelado (**1,74**) o valor suspeito, **73,23**, é considerado aberrante, portanto, foi descartado.

4.3.2.2) Homocedasticidade.

Prosseguindo com tratamento estatístico, foi verificado a homocedasticidade do método, ou seja, a independência da variância das respostas do método com as concentrações das amostras analisadas, através do teste de Cochran, aplicando a fórmula que se segue.

$$C_{cal} = S^2_{\text{maior}} / \sum S^2_j$$

Onde:

$$S^2 = \text{variância}$$

$$S^2_{\text{maior}} = \text{maior variância}$$

$$\sum S^2_j = \text{somatório das variâncias}$$

Se C calculado > C tabelado Heterocedasticidade

Se C calculado < C tabelado Homocedasticidade

C tabelado = 0,684

Tabela 8 – Apresentação do cálculo das variâncias, desvio padrão (DP) e desvio padrão relativo (DPR) referentes às concentrações obtidas em cada nível.

	Padrão 50 %	Padrão 75 %	Padrão 100 %	Padrão 125 %	Padrão 150 %
Replicata 1	49,94	75,10	100,18	124,35	148,43
Replicata 2	49,88	75,00	100,07	124,31	148,44
Replicata 3	49,99	75,14	99,78	124,15	148,25
Replicata 4	49,96	-	99,95	124,04	148,26
Replicata 5	49,99	75,00	99,93	124,43	148,23
Replicata 6	49,99	75,09	100,10	124,30	148,19
Média	49,96	75,07	100,00	124,26	148,30
Variância	0,002	0,004	0,020	0,020	0,012
DP	0,04	0,06	0,14	0,14	0,11
DPR	0,08	0,08	0,14	0,11	0,07

Varância = S^2

S^2 maior = **0,020**

$\sum S^2_j =$ **0,058**

Aplicando a fórmula, C calculado = **0,344**.

Como C calculado **0,344** é menor que C tabelado **0,684** o critério de homocedasticidade foi aceito, ou seja, o método analítico é linear na faixa de concentração estudada, portanto, a regressão linear foi executada pelo método dos mínimos quadrados, que estima qual a melhor reta que passa pelos pontos obtidos experimentalmente a partir da curva de calibração.

4.3.2.3) Determinação do coeficiente de variação (desvio padrão relativo).

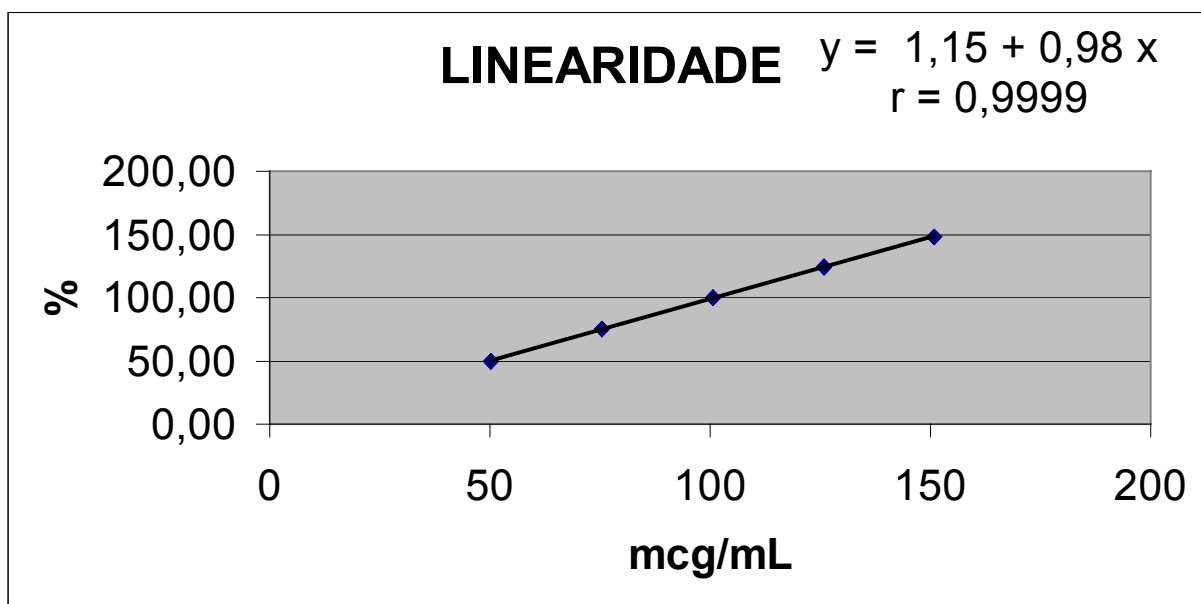
Foi determinado o coeficiente de variação, ou seja, o desvio padrão relativo (DPR), entre as injeções para cada nível de concentração expressos na tabela 8 página 52, a fim de verificar a repetitividade das mesmas.

Para um número de injeções maior ou igual a cinco, é recomendável um DPR $\leq 1\%$ (SHABIR, 2003). Observando a tabela 8 página 52, verificamos que os valores de DPR obtidos entre as injeções em cada nível de concentração, foram menores que 1 %, sendo, portanto a repetitividade entre as injeções satisfatória, garantindo assim, uma menor variação analítica e conseqüentemente dos resultados obtidos.

4.3.2.4) Curva de Calibração:

A curva de calibração foi elaborada a partir dos valores de concentração, correspondente a cada nível, expressos na tabela 8 página 52, o gráfico correspondente à linearidade do método, foi construído, ou seja, a curva de calibração.

Gráfico 2 – Gráfico que representa a linearidade do método.



Realizada a análise de regressão, pelo método dos mínimos quadrados, o coeficiente de correlação linear (r) foi calculado e a equação da reta determinada, representada pela equação $y = a + bx$, onde y é a variável dependente e x a independente, e seus respectivos coeficientes, denominados coeficientes da regressão. (LAPPONI, 2000).

Equação da reta:

$$y = 1,15 + 0,98x$$

$$\text{Coeficiente linear (a)} = 1,15 \pm 0,43$$

$$\text{Coeficiente angular (b)} = 0,98 \pm 0,00$$

O coeficiente de correlação linear (r), expressa a relação de x e y na curva, cujos valores podem estar compreendidos $-1 \leq r \leq +1$, onde os valores ideais esperados são $+1$ e -1 , ou seja, quanto mais próximo da unidade, maior é a probabilidade de existir uma relação linear definida. Se os valores de r tenderem a zero, indicam que não há uma relação linear definida. (MILLER & MILLER, 1988; LEITE, 1998). Não se aceitando valores para o coeficiente de correlação linear (r) inferiores a **0,99** (BRASIL, 2003). O coeficiente de correlação obtido foi de $r = 0,9999$, indicando que há uma relação linear entre as variáveis.

4.3.2.5) ANOVA na regressão.

A ANOVA (análise de variância) na regressão é utilizado para confirmar a regressão, a partir da distribuição F, utilizada para realizar o teste de hipótese da equação da reta de regressão, onde a hipótese nula (H_0) é de que o coeficiente angular $b = 0$ e a hipótese alternativa (H_1) é de que $b \neq 0$, podemos assim representar:

$$H_0 : b = 0$$

$$H_1 : b \neq 0$$

Se o F-calculado é maior que F-crítico a hipótese nula deve ser rejeitada e aceita a hipótese alternativa, $b \neq 0$, e assim pode-se confirmar e aceitar a regressão.

Tabela 9 - Anova na regressão.

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	35656,40	35656,40	257236,72	2,92119E-55
Resíduo	27	3,74	0,14		
Total	28	35660,14			

gl = graus de liberdade; SQ = soma quadrática; MQ = média quadrática; F = F estatístico calculado; E=exponencial.

Observando a tabela 9 página 54, verificamos que F-calculado é maior F-crítico ou F de significação, portanto, a hipótese nula é rejeitada e aceita a hipótese alternativa, ou seja, $b \neq 0$ confirmando assim a regressão.

4.3.2.6) Gráfico de Resíduos.

O gráfico de resíduos foi incluído para verificar o quanto à reta obtida experimentalmente se aproxima da ideal. A seguir é apresentada a tabela 10 na página 55, os valores de Y previsto e os respectivos resíduos. No gráfico 3, página 56, estão

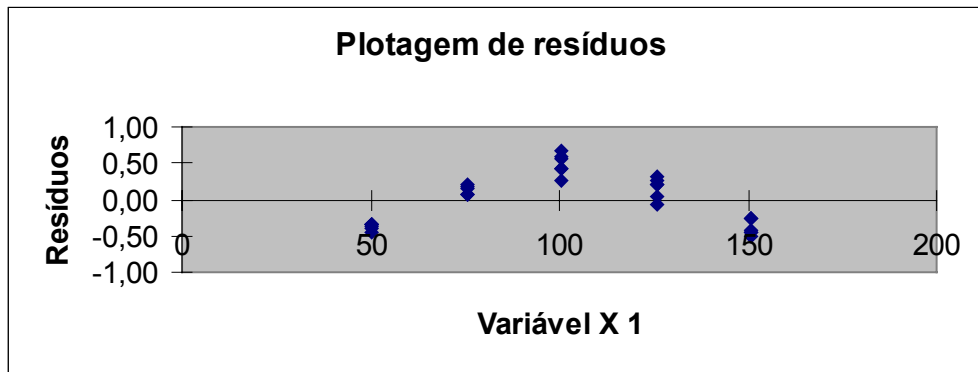
representados os resíduos. A população dos resíduos normalmente distribuída apresenta média igual a zero (MILLER & MILLER, 1998).

No gráfico 4 página 56, estão representados os valores de Y previsto e Y experimental para cada valor de x.

Tabela 10 - Valores de Y previsto e os respectivos resíduos.

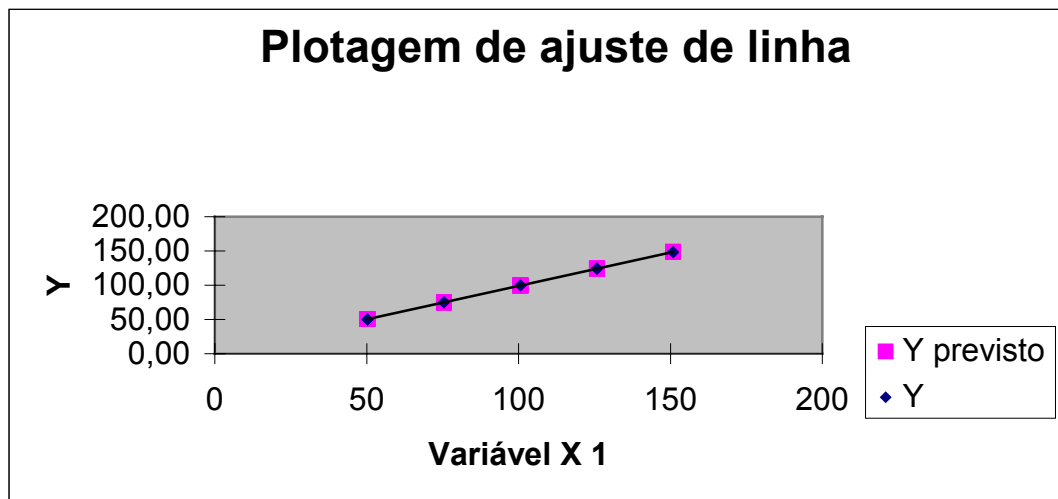
Observação	Y previsto	Resíduos
1	50,33	-0,39
2	50,33	-0,45
3	50,33	-0,34
4	50,33	-0,37
5	50,33	-0,34
6	50,33	-0,34
7	74,92	0,18
8	74,92	0,08
9	74,92	0,22
10	74,92	0,08
11	74,92	0,16
12	99,51	0,67
13	99,51	0,56
14	99,51	0,27
15	99,51	0,44
16	99,51	0,42
17	99,51	0,59
18	124,10	0,25
19	124,10	0,21
20	124,10	0,05
21	124,10	-0,06
22	124,10	0,33
23	124,10	0,20
24	148,69	-0,26
25	148,69	-0,25
26	148,69	-0,44
27	148,69	-0,43
28	148,69	-0,46
29	148,69	-0,50

Gráfico 3 – Gráfico de resíduos.



No gráfico 4 página 56, estão representados os valores de Y experimental e Y previsto, onde pode ser observado que as retas se sobrepõem, demonstrando assim que reta obtida experimentalmente se aproxima da ideal.

Gráfico 4 – Gráfico dos valores de Y experimental e Y previsto



4.3.3) Exatidão.

A avaliação estatística foi executada através cálculo do percentual recuperado, ou seja, a relação percentual entre a concentração de Didanosina encontrada, em cada nível de concentração, e a concentração esperada, em função da quantidade adicionada. Incluímos ainda o cálculo do intervalo de confiança para cada nível.

É geralmente expressa como porcentagem de recuperação (%R) da substância de interesse, calculada segundo a fórmula.

$$\%R = \frac{X}{Y} \times 100$$

Onde,

%R = porcentagem de recuperação

X = média dos resultados (valor encontrado)

Y = concentração teórica (valor esperado)

Tabela 11 – Resultados da exatidão (% recuperado) em cada nível de concentração.

Amostras	75 %	100 %	125 %
Am A ₁	100,37	99,78	98,97
Am A ₂	100,43	100,63	99,00
Am A ₃	100,56	99,96	98,94
Am B ₁	101,58	100,57	99,09
Am B ₂	101,43	100,31	100,04
Am B ₃	99,23	98,56	100,02
Am C ₁	99,98	102,50	101,44
Am C ₂	99,32	101,94	101,39
Am C ₃	99,42	102,87	101,42
Média % R	100,26	100,79	100,03
DP	0,86	1,40	1,12
DPR	0,86	1,39	1,12
Intervalo de confiança	± 0,66	± 1,08	± 0,86

Segundo bibliografia consultada a média dos valores de recuperação do método analítico deve ser igual a 100 % ± 2 do valor rotulado (SHABIR, 2003), portanto pode variar de 98 % a 102 %. Na tabela 11, página 57, estão representadas as médias obtidas para cada nível de concentração, onde os valores encontrados foram 100,26 % ± 0,66; 100,79 % ± 1,08 e 100,03 % ± 0,86, demonstrando que as médias de recuperação obtidas incluindo o intervalo de confiança, estão dentro dos limites permitidos em literatura. Portanto, a exatidão do método analítico foi considerada satisfatória.

4.3.4) Precisão:

A precisão do método analítico foi avaliada nos níveis de Repetitividade e Precisão Intermediária.

4.3.4.1) Repetitividade:

Os resultados da repetitividade foram avaliados através do cálculo do desvio padrão relativo (DPR) para cada determinação, expressos na tabela 12 página 58.

Tabela 12 – Resultados obtidos na avaliação da repetitividade.

Amostras	Laboratório A	Laboratório B	Laboratório C
Am A ₁	100,38	98,68	97,30
Am A ₂	100,55	98,54	97,26
Am B ₁	100,30	98,15	97,95
Am B ₂	100,00	98,21	97,66
Am C ₁	100,32	98,61	97,85
Am C ₂	100,25	98,36	97,68
Am D ₁	99,96	97,43	97,40
Am D ₂	99,67	97,64	97,41
Am E ₁	101,31	98,47	97,29
Am E ₂	100,96	97,50	97,56
Am F ₁	100,93	98,14	97,14
Am F ₂	101,09	97,17	97,24
Média	100,48	98,08	97,48
DP	0,50	0,51	0,26
DPR	0,50	0,51	0,27

A precisão de um método analítico permite avaliar o grau de dispersão dos resultados obtidos, ou seja, como os resultados estão distribuídos em relação à média obtida, expresso como desvio padrão relativo (DPR), portanto quanto menor o DPR obtido menor a variação analítica. Na tabela 12 página 58, constam os valores dos DPR obtidos para cada análise. Podemos observar que todos os valores encontrados são inferiores a 2 %, portanto a repetitividade do método é satisfatória.

4.3.4.2) Precisão Intermediária.

A avaliação dos resultados da precisão intermediária foi executada através da comparação das variâncias pelo Teste-F de Snedecor, onde a hipótese nula (H_0) é de que não há diferença significativa entre as variâncias de duas análises, indicando assim, que não há diferença significativa entre as mesmas. Para que a hipótese nula seja aceita, F-calculado deve ser menor que F-crítico, também denominado de F-tabelado. O valor de F-calculado é obtido pela divisão da maior variância (numerador) pela menor variância (denominador), portanto, é sempre maior que a unidade.

Os resultados referentes à primeira comparação, ou seja, os resultados obtidos nas análises executadas por dois analistas no mesmo equipamento são apresentados nas tabelas 13, 15, e 17 nas páginas 60, 61 e 62 respectivamente e nas tabelas 14, 16 e 18 respectivamente nas mesmas páginas, são apresentadas as comparações dos resultados pelo Teste-F.

Tabela 13– Precisão intermediária para o **Laboratório A**, analistas diferentes no mesmo equipamento.

Amostras	Equipamento 1 Analista 1	Equipamento 1 Analista 2
LaboratórioA		
Am A ₁	100,38	101,99
Am A ₂	100,55	102,06
Am B ₁	100,30	100,65
Am B ₂	100,00	100,82
Am C ₁	100,32	101,05
Am C ₂	100,25	101,40
Am D ₁	99,96	101,14
Am D ₂	99,67	100,84
Am E ₁	101,31	101,07
Am E ₂	100,96	101,06
Am F ₁	100,93	100,78
Am F ₂	101,09	100,82
Média	100,48	101,14
DP	0,50	0,46
DPR	0,50	0,45

Tabela 14 – Teste-F para o **Laboratório A**, analistas diferentes no mesmo equipamento.

	Variável 1 (Analista 1)	Variável 2 (Analista 2)
Média	100,48	101,14
Variância	0,25	0,21
Observações	12	12
gl	11	11
F		1,19
F crítico bi-caudal		3,43

gl = graus de liberdade; F = F estatístico calculado; F crítico bi-caudal = F tabelado bi-caudal
 Nesta comparação o valor de F calculado 1,19 é menor que o valor de F crítico.

Tabela 15 - Precisão intermediária para o **Laboratório B** analistas diferentes no mesmo equipamento.

Amostras	Equipamento 1 Analista 1	Equipamento 1 Analista 2
Laboratório B		
Am A ₁	98,68	98,77
Am A ₂	98,54	99,35
Am B ₁	98,15	98,75
Am B ₂	98,21	98,64
Am C ₁	98,61	99,39
Am C ₂	98,36	99,76
Am D ₁	97,43	99,77
Am D ₂	97,64	98,33
Am E ₁	98,47	98,84
Am E ₂	97,50	98,89
Am F ₁	98,14	98,13
Am F ₂	97,17	98,98
Média	98,08	98,88
DP	0,51	0,45
DPR	0,51	0,46

Tabela 16 - Teste-F para o **Laboratório B**, analistas diferentes no mesmo equipamento.

	Variável 1 (Analista 1)	Variável 2 (Analista 2)
Média	98,08	98,88
Variância	0,26	0,20
Observações	12	12
gl	11	11
F		1,30
F crítico bi-caudal		3,43

gl = grau de liberdade; F = F estatístico calculado; F crítico bi-caudal = F tabelado bi-caudal

Nesta comparação o valor de F calculado 1,30 é menor que o valor de F crítico.

Tabela 17 - Precisão intermediária para o **Laboratório C**, analistas diferentes no mesmo equipamento.

Amostras	Equipamento 1 Analista 1	Equipamento 1 Analista 2
Laboratório C		
Am A ₁	97,30	98,84
Am A ₂	97,26	99,14
Am B ₁	97,95	97,99
Am B ₂	97,66	97,73
Am C ₁	97,85	98,81
Am C ₂	97,68	98,00
Am D ₁	97,40	97,75
Am D ₂	97,41	97,79
Am E ₁	97,29	98,04
Am E ₂	97,56	97,98
Am F ₁	97,14	98,36
Am F ₂	97,24	98,57
Média	97,48	98,25
DP	0,26	0,48
DPR	0,27	0,49

Tabela 18 - Teste-F para o **Laboratório C**, analistas diferentes no mesmo equipamento.

	Variável 1 (Analista 2)	Variável 2 (Analista 1)
Média	98,25	97,66
Variância	0,23	0,07
Observações	12	12
gl	11	11
F		3,26
F crítico bi-caudal		3,43

gl = graus de liberdade; F = F estatístico calculado; F crítico bi-caudal = F tabelado bi-caudal

Nesta comparação o valor de F calculado 3,26 é menor que o valor de F crítico.

Nesta primeira comparação, onde as análises foram executadas variando o analista e mantendo os demais parâmetros constantes. Verificou-se, para todas as análises, que o valor de F-calculado foi menor que o valor de F-crítico, portanto, a hipótese nula foi aceita, indicando assim, que não houve diferença significativa entre as análises realizadas por analistas diferentes, no mesmo equipamento para o Laboratório A, B e C. Permitindo concluir que o método analítico apresentou resultado satisfatório na precisão intermediária quanto ao parâmetro avaliado nesta comparação, analistas diferentes.

Os resultados referentes à segunda comparação, ou seja, os resultados obtidos nas análises executadas em equipamentos diferentes pelo mesmo analista, são apresentados nas tabelas 19, 21 e 23 páginas 64, 65 e 66 respectivamente e nas tabelas 20, 22 e 24 respectivamente nas mesmas páginas, são apresentadas as comparações dos resultados pelo Teste-F.

Tabela 19 – Precisão intermediária para o **Laboratório A** mesmo analista em equipamentos diferentes.

Amostras Laboratório A	Analista 2 Equipamento 1	Analista 2 Equipamento 2
Am A ₁	101,99	99,61
Am A ₂	102,06	99,64
Am B ₁	100,65	100,52
Am B ₂	100,82	100,58
Am C ₁	101,05	100,98
Am C ₂	101,40	100,66
Am D ₁	101,14	100,05
Am D ₂	100,84	100,22
Am E ₁	101,07	99,24
Am E ₂	101,06	99,37
Am F ₁	100,78	100,58
Am F ₂	100,82	101,10
Média	101,14	100,21
DP	0,46	0,63
DPR	0,45	0,63

Tabela 20 –Teste-F para o **Laboratório A**, mesmo analista em equipamentos diferentes.

	Variável 1 (Equipamento2)	Variável 2 (Equipamento1)
Média	100,21	101,14
Variância	0,39	0,21
Observações	12	12
gl	11	11
F		1,86
F crítico bi-caudal		3,43

gl = graus de liberdade; F = F estatístico calculado; F crítico bi-caudal = F tabelado bi-caudal

Nesta comparação o valor de F- calculado 1,86 é menor que o valor de F- crítico.

Tabela 21 – Precisão intermediária para o **Laboratório B**, mesmo analista em equipamentos diferentes.

Amostras	Analista 2 Equipamento 1	Analista 2 Equipamento 2
Laboratório B		
Am A ₁	98,77	99,12
Am A ₂	99,35	99,16
Am B ₁	98,75	99,18
Am B ₂	98,64	99,24
Am C ₁	99,39	98,72
Am C ₂	99,76	98,68
Am D ₁	99,77	99,04
Am D ₂	98,33	98,86
Am E ₁	98,84	97,90
Am E ₂	98,89	97,58
Am F ₁	98,13	98,14
Am F ₂	98,98	98,81
Média	98,88	98,70
DP	0,45	0,52
DPR	0,46	0,53

Tabela 22 –Teste-F para o **Laboratório B**, mesmo analista em equipamentos diferentes.

	Variável 1 (Equipamento2)	Variável 2 (Equipamento1)
Média	98,70	98,88
Variância	0,30	0,20
Observações	12	12
gl	11	11
F		1,50
F crítico bi-caudal		3,43

gl = graus de liberdade; F = F estatístico calculado; F crítico bi-caudal = F tabelado bi-caudal

Nesta comparação o valor de F- calculado 1,50 é menor que o valor de F- crítico.

Tabela 23–Precisão intermediária para o **Laboratório C**, mesmo analista em equipamentos diferentes.

Amostra Laboratório C	Analista 2 Equipamento 1	Analista 2 Equipamento 2
Am A ₁	98,84	99,13
Am A ₂	99,14	98,88
Am B ₁	97,99	98,33
Am B ₂	97,73	98,08
Am C ₁	98,81	98,66
Am C ₂	98,00	98,34
Am D ₁	97,75	99,20
Am D ₂	97,79	98,73
Am E ₁	98,04	98,57
Am E ₂	97,98	98,96
Am F ₁	98,36	98,03
Am F ₂	98,57	98,59
Média	98,25	98,63
DP	0,48	0,38
DPR	0,49	0,39

Tabela 24 –Teste-F para o **Laboratório C**, mesmo analista em equipamentos diferentes.

	Variável 1 (Equipamento1)	Variável 2 (Equipamento2)
Média	98,25	98,63
Variância	0,23	0,15
Observações	12	12
gl	11	11
F		1,53
F crítico bi-caudal		3,43

gl = graus de liberdade; F = F estatístico calculado; F crítico bi-caudal = F tabelado bi-caudal

Nesta comparação o valor de F-calculado 1,53 é menor que o valor de F- crítico.

Nesta segunda comparação, onde as análises foram executadas variando o equipamento e mantendo os demais parâmetros constantes. Verificou-se, para todas as análises, que o valor de F-calculado foi menor que o valor de F-crítico, portanto, a hipótese nula foi aceita, indicando assim, que não houve diferença significativa entre as análises realizadas pelo mesmo analista em equipamentos diferentes para o Laboratório A, B e C. Permitindo concluir que o método analítico apresentou resultado satisfatório na precisão intermediária quanto ao parâmetro avaliado nesta comparação, equipamentos diferentes.

Os resultados referentes a terceira e última comparação, ou seja, os resultados obtidos nas análises executadas por analistas diferentes em equipamentos diferentes, são apresentados nas tabelas 25, 27 e 29 páginas 68, 69 e 70 respectivamente e nas tabelas 26, 28 e 30 nas mesmas páginas respectivamente, são apresentadas as comparações dos resultados pelo Teste-F.

Tabela 25 – Precisão intermediária para o **Laboratório A**, analistas e equipamentos diferentes.

Amostras Laboratório A	Analista 1 e Equipamento 1	Analista 2 e Equipamento 2
Am A ₁	100,38	99,61
Am A ₂	100,55	99,64
Am B ₁	100,30	100,52
Am B ₂	100,00	100,58
Am C ₁	100,32	100,98
Am C ₂	100,25	100,66
Am D ₁	99,96	100,05
Am D ₂	99,67	100,22
Am E ₁	101,31	99,24
Am E ₂	100,96	99,37
Am F ₁	100,93	100,58
Am F ₂	101,09	101,10
Média	100,48	100,21
DP	0,50	0,63
DPR	0,50	0,63

Tabela 26 –Teste-F para o **Laboratório A**, analistas e equipamentos diferentes.

	Variável 1 Analista 2 e Equipamento 2	Variável 2 Analista 1 e Equipamento 1
Média	100,21	100,42
Variância	0,39	0,25
Observações	12	12
gl	11	11
F		1,56
F crítico bi-caudal		3,43

gl = graus de liberdade; F = F estatístico calculado; F crítico bi-caudal = F tabelado bi-caudal

Nesta comparação o valor de F calculado 1,56 é menor que o valor de F crítico.

Tabela 27 – Precisão intermediária para o **Laboratório B**, analistas e equipamentos diferentes.

Amostras	Analista 1 e Equipamento 1	Analista 2 e Equipamento 2
Laboratório B		
Am A ₁	98,68	99,12
Am A ₂	98,54	99,16
Am B ₁	98,15	99,18
Am B ₂	98,21	99,24
Am C ₁	98,61	98,72
Am C ₂	98,36	98,68
Am D ₁	97,43	99,04
Am D ₂	97,64	98,86
Am E ₁	98,47	97,90
Am E ₂	97,50	97,58
Am F ₁	98,14	98,14
Am F ₂	97,17	98,81
Média	98,08	98,70
DP	0,51	0,52
DPR	0,51	0,53

Tabela 28 –Teste-F para o **Laboratório B**, analistas e equipamentos diferentes.

	Variável 1	Variável 2
	Analista 2 e Equipamento 2	Analista 1 e Equipamento 1
Média	98,70	98,08
Variância	0,30	0,26
Observações	12	12
gl	11	11
F		1,15
F crítico bi-caudal		3,43

gl = graus de liberdade; F = F estatístico calculado; F crítico bi-caudal = F tabelado bi-caudal

Nesta comparação o valor de F calculado 1,15 é menor que o valor de F crítico.

Tabela 29 – Precisão intermediária para o **Laboratório C**, analistas e equipamentos diferentes.

Amostras Laboratório C	Analista 1 e Equipamento 1	Analista 2 e Equipamento 2
Am A ₁	97,30	99,13
Am A ₂	97,26	98,88
Am B ₁	97,95	98,33
Am B ₂	97,66	98,08
Am C ₁	97,85	98,66
Am C ₂	97,68	98,34
Am D ₁	97,40	99,20
Am D ₂	97,41	98,73
Am E ₁	97,29	98,96
Am E ₂	97,56	98,94
Am F ₁	97,14	98,03
Am F ₂	97,24	98,59
Média	97,48	98,63
DP	0,26	0,38
DPR	0,27	0,39

Tabela 30 –Teste-F para o **Laboratório C**, analistas e equipamentos diferentes.

	Variável 1	Variável 2
	Analista 2 e Equipamento 2	Analista 1 e Equipamento 1
Média	98,63	97,48
Variância	0,15	0,07
Observações	12	12
gl	11	11
F		2,14
F crítico bi-caudal		3,43

gl = graus de liberdade; F = F estatístico calculado; F crítico bi-caudal = F tabelado bi-caudal

Nesta comparação o valor de F calculado 2,14 é menor que o valor de F crítico.

Nesta terceira e última comparação, onde as análises foram executadas por analistas e equipamentos diferentes, ou seja, variando os parâmetros simultaneamente. Verificou-se, para todas as análises, que o valor de F-calculado foi menor que o valor de F-crítico, portanto, a hipótese nula foi aceita, indicando assim, que não houve diferença significativa entre as análises realizadas por analistas diferentes em equipamentos diferentes para o Laboratório A, B e C. Esta comparação permitiu avaliar a resistência do método analítico, ou seja, o grau de reprodutibilidade dos resultados obtidos para uma mesma amostra sobre condições variadas (ICH, 1994; USP, 2000) sendo considerada satisfatória, uma vez que não houve diferença significativa entre as análises pelo Teste-F.

4.3.5) Faixa.

A faixa de trabalho determinada para o método analítico para análise de teor do comprimido de Didanosina 100 mg foi de 75 % a 125 % do valor rotulado, uma vez que, esse intervalo representa a concentração inferior e superior estudada, que apresenta adequado nível de exatidão, precisão e linearidade.

5) CONCLUSÃO.

Ao incluir a história do desenvolvimento e produção de anti-retrovirais vivida pelos profissionais do Instituto Vital Brasil, este estudo ressaltou que, ainda que a Indústria Farmacêutica no Brasil, e inserido nesta os Laboratórios Oficiais, se ocupe principalmente das etapas tecnológicas de produção e do marketing, é importante destacar que mesmo a etapa de produção, ou seja, a indústria da formulação, é uma área que também requer tecnologia, necessitando de investimentos para uma constante atualização e modernização, tanto de equipamentos como de procedimentos, a fim de atender à legislação sanitária, cada vez mais exigente.

Finalizando, a reflexão sobre o desenvolvimento e produção de anti-retrovirais, onde os profissionais, sabendo o recomendado, fizeram o possível, sem perder de vista seu objetivo final, ou seja, produzir medicamentos com qualidade, cuja segurança e eficácia estejam asseguradas, este estudo destacou a necessidade urgente de investimento nos Laboratórios Oficiais, tanto para o desenvolvimento tecnológico como a capacitação de recursos humanos, frente ao papel que estes laboratórios desempenham para a saúde pública, e que fora discutido ao longo do trabalho. Chamou a atenção para a necessidade de se concretizar o que já é previsto em uma das diretrizes da Política Nacional de Medicamentos do Ministério da Saúde, ou seja, a implementação de mecanismos que possibilitem a modernização dos sistemas de produção para os laboratórios oficiais. Lembrando que não adianta apenas regulamentar as atividades de produção de medicamentos a partir da legislação sanitária, sem efetivamente implementar uma política concreta de investimentos, que viabilize aos Laboratórios Oficiais cumprir com a mesma, em especial para o presente estudo as BPFs.

Este estudo demonstrou ainda, a importância da validação de metodologia analítica, parte essencial das BPFs, como ferramenta fundamental para o controle da qualidade dos medicamentos distribuídos no mercado, uma vez que, o método analítico validado permite o conhecimento da variabilidade analítica, e que a variabilidade foi controlada, ou seja, encontra-se dentro de uma variação permitida para aplicação pretendida, e assim assegura a confiabilidade dos resultados obtidos durante o uso normal. Dessa forma este estudo concluiu que a validação de metodologia permite avaliar objetivamente a qualidade dos medicamentos produzidos a fim de garantir a segurança e eficácia dos mesmos. Demonstrou ainda que os estudos de validação viabilizam o desenvolvimento de novos processos, ainda não relacionados nas normas escritas dos compêndios oficiais, como a

metodologia analítica aqui desenvolvida, favorecendo assim a pesquisa de novas tecnologias e assegurando a qualidade das mesmas.

Ao desenvolver o método analítico dentro dos parâmetros de validação, demonstrou que as características de performance do método apresentam os requisitos necessários para aplicação analítica pretendida, sendo, portanto o método analítico considerado validado.

E em última análise, permite observar que a atual Política Nacional de Medicamentos apresenta avanços, porém é preciso que se concretize no que tange ao desenvolvimento científico e tecnológico, promoção da produção de medicamentos e capacitação de recurso humano.

6) BIBLIOGRAFIA.

AURÉLIO: novo dicionário Aurélio da Língua Portuguesa, 2^a edição revista e ampliada. Rio de Janeiro: Nova Fronteira S.A., 1999, p.79.

ANVISA, (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Planos de Trabalho da Unidade de Farmacovigilância, outubro de 2001 a março de 2002. Disponível em: www.anvisa.gov.br/farmacovigilancia/plano_farmacologia.htm. Acesso em: 21 de maio de 2002.

ANVISA, (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2003a. O que é Farmacovigilância. Disponível em: www.anvisa.gov.br/farmacovigilância/conceito.htm. Acesso em: 06 de junho de 2003.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2003b. Glossário da Anvisa. Conceitos de Farmacovigilância. Disponível: www.anvisa.gov.br/farmacovigilância/conceito_glossário.htm. Acesso em: 06 de junho de 2003.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2003c. Planos de Trabalho da Unidade de Farmacovigilância, abril de 2002 a dezembro de 2003. Disponível em: www.anvisa.gov.br/farmacovigilancia/plano/2002_2003.htm. Acesso em: 06 de junho de 2003.

BALINT,G., A., Antiretroviral therapeutics possibilities for human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome, **Pharmacology & Therapeutics**, v. 89. p 17-27. 2001.

BASTOS, F.I. et al. A epidemia de Aids no Brasil. In: MINAYO, M.C.S., (org) **Os Muitos Brasis: saúde e população na década de 80**. São Paulo: Hucitec-Abrasco, 1995, p. 245-268.

BRASIL, Lei nº 5.991 de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 19 de dez. de 1973, retificada em 21 de dez. de 1973. Disponível: www.anvisa.gov.br/legis/leis/5991_73.htm. Acesso em: ago. de 2001.

BRASIL, Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 de set. de 1976. Disponível: www.anvisa.gov.br/legis/leis/6360_76.htm. Acesso em: ago. de 2001.

BRASIL, Portaria nº 236 de 02 de maio de 1995. Estabelece as diretrizes para o programa de controle da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, SIDA ou AIDS, no âmbito do território nacional, atribui à divisão de Dermatologia Sanitária, da Secretaria Nacional de Programas Especiais de Saúde, a coordenação do mesmo. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, data, Disponível: www.aids.gov.br/c_geral/eciv03.htm. Acesso em: 03 de jun. de 2003.

BRASIL. Lei nº 8.080 de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/leis/index.htm>. Acesso em: 20 de set. de 2002.

BRASIL. Portaria SVS/MS nº 16, de 6 de março de 1995. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 de mar. de 1995. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/portarias/16_95.htm. Acesso em: 03 de jun. de 2003.

BRASIL. Portaria nº 3.916 de 30 de outubro de 1998. Aprova a Política Nacional de Medicamentos. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 de novembro de 1998. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/index98.htm>. Acesso em: 20 de set. de 2002.

BRASIL 1999a, Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11 de fev. de 1999, Seção 1, pág.1.

BRASIL, 1999b. Lei nº 9.787 de 10 de fevereiro de 1999. Altera a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/leis/9787-99.htm>. Acesso em: 20 de set. de 2002.

BRASIL, 1999c. Resolução (RE) nº 391 de 9 de agosto de 1999. Aprova o regulamento técnico para medicamento genérico. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 de agosto de 1999. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/leis/391_99htm. Acesso em: ago. de 2001.

BRASIL, 2001a. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 10 de 2 de janeiro de 2001. Revoga a Resolução (RE) nº 391 de 9 de agosto de 1999 e aprova o regulamento técnico para medicamento genérico. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 09 de janeiro de 2001. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/10_01rdc.htm. Acesso em: agosto de 2001.

BRASIL, 2001b. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 134 de 13 de julho de 2001. Revoga a Portaria SVS/MS nº 16, de 6 de março de 1995 e dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 16 de julho de 2001. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/134_01rdc.htm. Acesso em: agosto de 2001.

BRASIL, 2002a. Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 84, de 19 de março de 2002. Revoga a Resolução (RE) nº 391 de 9 de agosto de 1999 e aprova o regulamento técnico para medicamento genérico. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 de março de 2002. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/hotsite/genericos/legis/resoluções.htm>. Acesso em: 01 de abril de 2002.

BRASIL, 2002b. Resolução (RE) nº 475, de 19 de março de 2002. Dispõe sobre o Guia para Validação de Métodos Analíticos. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 de março de 2002. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resolução/index_2002_re_mar.htm. Acesso em: 01 de abril de 2002.

BRASIL. Resolução (RE) nº 135, de 29 de maio de 2003. Revoga a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 84, de 19 de março de 2002 e aprova o Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 02 de junho de 2003. Disponível em: www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/rdc/135_03rdc.htm. Acesso em: 03 de junho de 2003.

BRASIL. Resolução (RE) nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial [da] Republica Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 02 de junho de 2003. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/index_re_mai.htm. Acesso em: 03 de junho de 2003.

BRAZIL, L.V. **Vital Brasil: vida e obra 1865 1950**. Niterói: Instituto Vital Brazil, 2001, 56 p. il.

BERMUDEZ, J. A. **Remédios: saúde ou indústria. A produção de medicamentos no Brasil**. Rio de Janeiro: Relume Dumará, 1992, p. 09-23.

_____. **Indústria Farmacêutica, Estado e Sociedade**. São Paulo: Hucitec/Sobravime, 1995, p. 75-114.

BERMUDEZ, J. A. et al. **O Acordo TRIPS da OMC e a Proteção Patentária no Brasil:** mudanças recentes para a produção local e o acesso da população aos medicamentos. Rio de Janeiro: FIOCRUZ/ ENSP, 2000, 131 p. il.

CAHOURS, X.; et al. Determination at ppb level of an anti-human immunodeficiency virus nucleoside drug by capillary electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 895, n. 1-2, p. 101-109, oct. 2000.

CASTILHO, E.A.; CHEQUER, P. A epidemiologia do HIV/AIDS no Brasil. In: PARKER, R., (org.), **Políticas Instituições e Aids – Enfrentando a epidemia no Brasil**. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, ABIA, 1997, p. 17-42.

CHENG, L.C., et al. **QFD: Planejamento, da Qualidade**. Belo Horizonte: Littera Maciel Ltda, 1995, 262 p. il.

COSTA, E. A.; ROZENFELD, S. Constituição da Vigilância Sanitária no Brasil. In: ROZENFELD, S., (org.), **Fundamentos da Vigilância Sanitária**. Rio de Janeiro: FIOCRUZ/ENSP, 2000, p. 15 – 40.

CURTIS, M. J., et al. **Farmacologia Integrada**. São Paulo: Manole Ltda, 1999, p. 456-457.

FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). Center for Drug Evaluation and Research, Drug Safety and Quality, 2000. Disponível: www.fda.gov/cder/reports/cder/rtn2000/rtn2000.htm. Acesso em: 08 de maio de 2002.

FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). Approval of dideoxyinosine (DDI). 10/09/1991. Disponível: www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/NEW00252.html. Acesso em: 08 de maio de 2002.

FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). DDI Receives Additional Approval. October 01, 1992. Disponível: www.fda.gov/bbs/topics/ANSWERS/AN00426.html. Acesso em: 08 de maio de 2002.

FDA (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION). FDA Approves First Drug in New Class of HIV Treatments for HIV Infected Adults and Children With Advanced Disease. March 13, 2003. Disponível: www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2003/NEW00879.html. Acesso em: 30 de novembro de 2003.

FLORES, Jesuz. **Farmacologia Humana**: 3 ed. Barcelona: Masson, 1997, p. 1187-1211.

FREDRIKSSON, J.; KANABUS, A. The History of AIDS. Disponível em: <http://www.avert.org>. Acesso em: novembro de 2002.

GALVÃO, J. 1980-2001 Uma cronologia da epidemia de HIV/AIDS no Brasil e no mundo. **Coleção ABIA. Políticas Públicas**, n.2, 2002.

GOODMAN, L.S.; GILMAN, A. G. **The Pharmacological Basis of Therapeutics**. 9 ed. New York: Mc Graw Hill, 1996, p. 1207-1208.

HAVEY, R. A.; CHAMPE, P. C. **Farmacologia Ilustrada**. 3 ed. Porto alegre: Artmed, 1998, p. 363-371.

ICH (INTERNATIONAL Conference on Harmonization) Harmonized Tripartite Guidelines. Text on Validation of Analytical Procedures, October 1994. [on-line], Disponível em: <http://www.ich.org/pdf/ICH/Q2A.pdf> Acesso em: 05 de janeiro de 2001.

ICH (INTERNATIONAL Conference on Harmonization) Harmonized Tripartite Guidelines. Validation of Analytical Procedures: Methodology, November 1996. [on-line], Disponível em: <http://www.ich.org/pdf/ICH/Q2B.pdf> Acesso em: 05 de janeiro de 2001.

LAFUENTE. C.S., et al. Development of sustained release matrix tablets of didanosine containing methacrylic and ethylcellulose polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 234, pp. 213-221, 2002.

LAPPONI, J.C. **Estatística usando Excel**. São Paulo: Lapponi treinamento e editora, 2000.

LEITE, Flávio. **Validação em Análise Química**. 3 ed. São Paulo: Átomo, 1998.

MILLER, J.C; MILLER, J.N. **Statistics for Analytical Chemistry**. 2 ed. Chichester: Ellis Horwood Limited, 1988.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE), Secretaria de Assistência à Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Consenso sobre Terapia antiretroviral em Adultos. Brasília, 1996.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE), Secretaria de Assistência à Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Consenso sobre Terapia antiretroviral para Adultos e Adolescentes infectados pelo HIV. Brasília, 1997.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE), Secretaria de Assistência à Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Infecção pelo HIV em Adultos e Adolescentes. Brasília, 1999.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE), Secretaria de Assistência à Saúde, Programa Nacional de DST e Aids, Recomendações para Terapia antiretroviral em Adultos e Adolescentes. Brasília, 2001.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE) 2002a, Coordenação Nacional de DST/AIDS, A Experiência do Programa Brasileiro de Aids. Brasília. 2002.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE) 2002b, Secretaria de Assistência à Saúde, Coordenação Nacional de DST e Aids, Unidade de assistência. "Aids: Etiologia, clínica, diagnóstico e tratamento", 2002. [on line] Disponível em: <http://www.aids.gov.br>. Acesso em: 10 de abr. de 2002.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE) 2002c, Secretaria de Assistência à Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Consenso sobre Terapia antiretroviral para Adultos e Adolescentes infectados pelo HIV 2002/2003. Brasília, 2002.

MS (MINISTÉRIO DA SAÚDE), Secretaria de Assistência à Saúde, Coordenação Nacional de DST e Aids, Unidade de assistência. Acesso Universal e gratuito. [on line] Disponível em: http://www.aids.gov.br/politica/acesso_universal_e_gratuito/acesso.htm . Acesso em: 01 de out. de 2003.

NASSAR, M.N., et al. Didanosine. **Analytical Profiles of Durg Substances and Excipients**. New York: Academic Press, v. 22, 1993, p. 185-227.

OLIVEIRA, M. A. et al. Evolução dos Preços da Zidovudina no Período de 1988 a 1999. In: VI CONGRESSO BRASILEIRO DE SAÚDE COLETIVA, São Paulo, 28 de agosto a 01 de setembro de 2000. **Anais**. ABRASCO, suplemento 2000, v.5, p.404.

OLIVEIRA, M. A. **Tecnociência, Ativismo e a Política do Tratamento da Aids**, Rio de Janeiro: UFRJ, 2001. 299 p. il. Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro - Engenharia de Produção – CAPES.

PARKER, R. et al. **A AIDS no Brasil (1982 – 1992)**. Rio de Janeiro: Relume Dumará-ABIA, 1994, p.13-55.

PERRY, C. M., NOBLE, S. Didanosine: An Updated Review of its Use in HIV Infection. **Drugs**, v. 58, n. 12, p. 1100-1135, Dec. 1999.

PHARMACOPEIAL Forum. USP Monographs. **Analytical Data – Interpretation and Treatment**, v. 29, n. 1, Jan-Feb, 2003, p. 187-205.

RAVASCO, R.J.; et al. A High-Performance Liquid Chromatographic Assay for Dideoxyinosine in Monkey Plasma and Urine. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 81, n.7, pp. 690-691, July 1992.

ROSENFELD, S. Farmacovigilância: Elementos para a discussão e perspectivas. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.14, n.2, abr-jun, 1998.

SHABIR, G. A. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopoeia and the International Conference on Harmonization. **Journal of Chromatography A**, 987, p. 57-66, 2003.

SILVA, P. **Farmacologia**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, p. 1096-1097.

TEIXEIRA, P. R.; Políticas Públicas em AIDS. In: PARKER, R., (org.), **Políticas Instituições e Aids – Enfrentando a epidemia no Brasil**. Rio de Janeiro: Jorge Zahar, ABIA, 1997, p. 43-68.

THE HIV Life Cycle. Disponível: www.aidsmeds.com/lessons/LifeCycleIntro.htm. Acesso em: 30 de agosto de 2001.

USP (THE UNITED STATES PHARMACOPEIA). **Validation of Compendial Methods**, 24 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2000, p. 2149-2152.