

Determinação automática de água em fármacos segundo Karl Fischer

Regina Schlink, Claudia Dengler, Dr. Karl-Heinz Surborg, Dr. Peter Kirschenbühler

Resumo

Segundo a Farmacopéia Européia, o teor de água de muitos fármacos é determinado por perda ou secagem em estufa ou dessecador. Normalmente trata-se de substâncias que não podem ser analisadas por titulação direta segundo Karl Fischer. Em vez de aplicar o método de estufa de secagem, utilizamos para as determinações de água um método automatizado de forno Karl Fischer, constituído do Processador de Amostras 774 com Forno e de um colorímetro KF. Os valores obtidos com este sistema situam-se todos dentro das faixas especificadas pela Farmacopéia e oferecem excelente reprodutibilidade.

Palavras-chaves:

Determinação de água, fármacos, Farmacopéia Européia, titulação segundo Karl Fischer, método de forno KF, automação

Introdução

Muitos ingredientes farmacêuticos ativos contêm água em forma adsorvida (água superficial) ou fixa em forma de hidrato (água de cristalização). O teor de água dos medicamentos influencia fortemente sua qualidade, vida útil e estabilidade, bem como a liberação das substâncias ativas. Portanto, a determinação de água assume grande importância na análise farmacêutica. A Farmacopéia Européia, 4ª edição (2002) descreve vários métodos de determinação do teor de água em fármacos. De longe, o método mais importante é a titulação segundo Karl Fischer. Normalmente a titulação é executada volumetricamente (semimicrodeterminação). Em caso de substâncias com teor de água muito baixo realiza-se uma titulação colorimétrica KF (microdeterminação).

Métodos de forno KF para amostras difíceis

Muitas substâncias liberam a água só lentamente ou em altas temperaturas, não sendo, por isso, adequadas para titulação Karl Fischer direta. Um outro problema é a baixa solubilidade de certas amostras em álcoois. Nesses casos, os métodos tradicionais recomendam o uso de solventes tóxicos para promover a dissolução, ou, alternativamente, extensos procedimentos de preparo de amostras. Outras substâncias apresentam reações colaterais com os reagentes KF, falseando assim o resultado. A Farmacopéia Européia especifica que esses tipos de fármacos não sejam analisados por titulação Karl Fischer, mas por determinação da perda por secagem em estufa ou dessecador (se necessário, sob vácuo). Todavia, com tal método, determinam-se todos os componentes voláteis liberados na temperatura de ensaio (p. ex. impurezas) e não especificamente o teor de água da substância.

A adoção do método do forno KF permite evitar os problemas descritos acima. A substância em investigação é aquecida em um forno tubular e a água liberada é transferida por meio de um gás portador para a célula de titulação, onde é determinada por meio de titulação Karl Fischer. Como somente a água penetra na célula KF e a própria amostra não entra em contato com o reagente KF, isto elimina as reações colaterais indesejáveis e os efeitos matriciais.

A automação proporciona nítidas vantagens

O Processador de Amostras Forno 774 permite automatizar o método de forno KF. Em contraste com o forno de secagem Karl Fischer convencional, as amostras não são mais introduzidas por meio de naveta, aplicando-se em seu lugar o método de frasco. As substâncias a analisar são pesadas diretamente dentro de frascos de amostra, que são então totalmente fechados e instalados no portador do Processador de Amostras com Forno. Para a exe-



Fig. 1: Sistema de análise automatizado utilizado nas investigações, constituído de um Processador de Amostras 774 com Forno e um Colorímetro KF 756.

cução da análise, o frasco de amostra é deslocado pela mesa giratória para a posição apropriada por cima do forno e então abaixada automaticamente para dentro do bloco de secagem. Ao mesmo tempo, uma agulha oca dupla perfura o septo do frasco. Através da agulha de entrada, um jato de gás portador seco (ar ou gás inerte) é passado através da amostra aquecida. O gás portador carregado com a umidade liberada flui então através da agulha de saída e um tubo de transferência aquecido diretamente para a célula de titulação, na qual ocorre a determinação de água segundo Karl Fischer. Dependendo do teor de água da amostra, a determinação é realizada volumetricamente ou, no nível de traços, colorimetricamente.

A automação da determinação de água segundo Karl Fischer mediante o Processador de Amostras 774 com Forno proporciona vantagens decisivas:

- Condições de análise rigorosamente reproduzíveis para todas as amostras, conforme demonstra a repetitividade dos resultados significativamente melhorada.
- Processamento de amostras consideravelmente melhor e, portanto, melhor eficiência.
- O preparo manual das amostras é reduzido ao mínimo.
- Consideráveis ganhos de tempo.
- Nenhuma contaminação do forno e da célula de titulação; conseqüentemente não há efeitos de arraste e memória.
- Consumo muito menor de solventes, uma vez que a solução de titulação só raramente precisa ser substituída.
- Melhor liberação da água da amostra, uma vez que o gás portador não passa apenas sobre a amostra, mas através dela.

Além disso, o Processador de Amostras com Forno pode funcionar com gradientes de temperatura. Mediante adoção da curva de liberação de água registrada, é possível determinar a temperatura ideal de análise para cada amostra em particular. A curva também permite estabelecer afirmativas sobre a cinética da liberação de água em função da temperatura.

Escopo das investigações realizadas

Utilizando o método KF com forno, analisamos aproximadamente 40 fármacos da Farmacopéia Européia. As análises foram realizadas com o Processador de Amostras 774 com Forno em combinação com um colorímetro KF 756. Os fármacos investigados foram substâncias com teor definido de água, algumas das quais incorrem em reações colaterais com os reagentes KF, não podendo, por isso, ser analisadas diretamente por titulação Karl Fischer. Conforme se disse acima, a Farmacopéia estabelece que o teor de água de tais substâncias seja determinado por perda ou secagem em estufa ou desidrator (se necessário, sob vácuo).

Instrumentos e acessórios

- Processador de Amostras 774 com Forno
- Colorímetro KF 756, com célula KF sem diafragma
- Agitador magnético 728
- Equipamento complementar 6.5617.000 para substituição automática de reagente
- Dosino 700
- PC com software VESUV 3.0 Metro para coleta, armazenagem e reprocessamento de dados.

Reagentes

- Hydranal Coulomat AG Oven, Riedel-de Haën nº 34739
- Hydranal Water Standard KF Oven (citrato de potássio monoidratado), Riedel-de Haën nº 34748
- Nitrogênio como gás portador inerte

Procedimento de análise

Pesam-se nos frascos de amostra entre 15 e 30 mg dos fármacos a analisar. Em seguida os frascos são selados hermeticamente por meio de septos revestidos de PTFE. Realizam-se no mínimo três determinações para cada substância.

Antes de cada determinação, todo o sistema é condicionado até se obter um arraste baixo e constante (aprox. 10 mg/min). Durante esse procedimento, a agulha é mantida num recipiente especial de condicionamento no suporte do Processador de Amostras com Forno.

Para obter resultados corretos, é necessário determinar a prova branca dos frascos de amostra (ou seja, a umidade aderente às paredes, à tampa e ao septo dos frascos), devendo-se levá-la em conta no cálculo do teor de água das amostras. Faz-se isto mediante a análise de três frascos vazios à temperatura de forno requerida para a amostra em questão.

O sistema inteiro é verificado em intervalos regulares com um padrão KF certificado (Hydranal Water Standard KF Oven).

Determinação das temperaturas de análise

Ao selecionar as temperaturas a adotar para extrair a água, é necessário levar em conta a estabilidade (instabilidade) térmica do fármaco em questão, bem como o fato de que a água só é liberada em taxas suficientemente rápidas a temperaturas acima de 100°C. Isto significa que a temperatura do forno a selecionar deve ser a mais alta possível a fim de assegurar tempos de determinação breves, mas ainda assim permanecer 20 a 30°C abaixo da temperatura de decomposição.

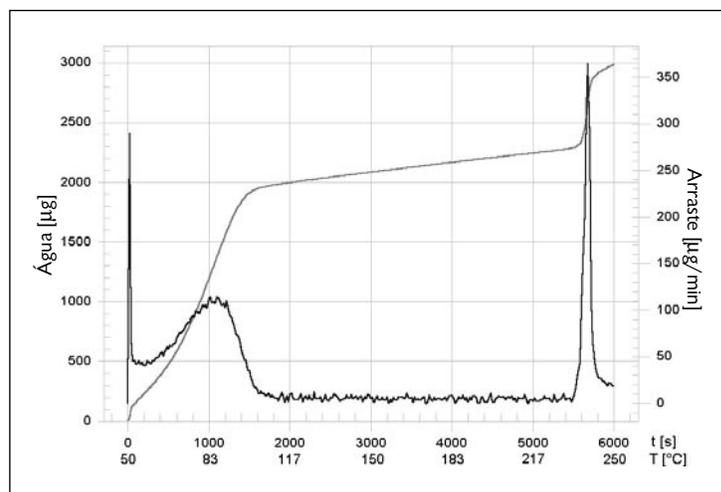


Fig. 3: Curva de liberação de água para metamizol sódico na faixa de temperatura de 50 ... 250°C. Mostram-se a quantidade de água e o arraste em função do tempo e da temperatura do forno.

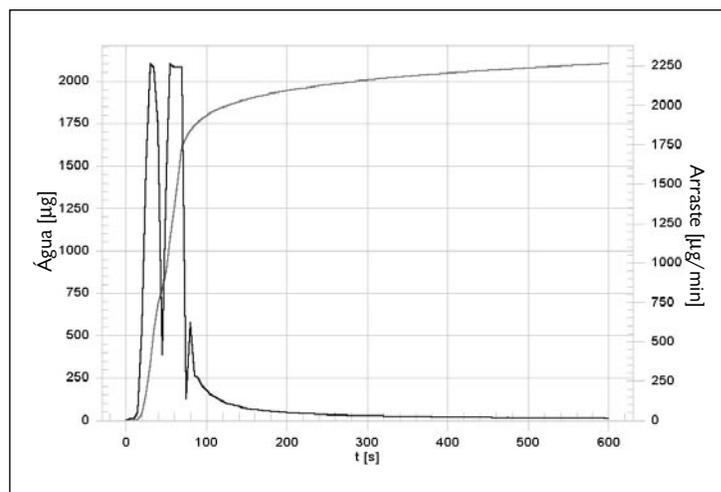


Fig. 4: Curva de titulação de cloridrato de morfina sob temperatura de forno de 180°. Indicam-se a quantidade absoluta de água e o arraste em função do tempo.

Determinam-se as temperaturas de análise com base nas curvas de liberação de água registradas para todos os fármacos investigados na faixa de temperatura de 50 ... 250°C. A fig. 3 apresenta uma dessas curvas de liberação de água para metamizol sódico. Além disso, todos os fármacos foram examinados por meio de um microscópio Kofler, tendo-se também determinado o seu ponto de fusão. Esse instrumento permite observar a substância de perto durante as fases de aquecimento e fusão, com fácil reconhecimento de quaisquer alterações, como mudanças de cor, sublimação ou reações de decomposição.

O metamizol sódico, cujas fórmulas estrutural e empírica constam da figura 2, funde entre 220°C e 221°C sob decomposição. A determinação de água por titulação KF volumétrica ou colorimétrica direta não é possível porque a substância é completa ou parcialmente oxidada por iodo.

A curva de liberação de água mostrada na fig. 3 foi registrada sob uma taxa de aquecimento de 2°C/min, ou seja, o metamizol sódico foi aquecido de 50 a 250°C em 100 min (=6000 s). Uma curva corresponde à quantidade absoluta de água liberada e a outra curva mostra o arraste associado. Tanto a umidade superficial como a água de cristalização são liberadas dentro do intervalo de 0 ... 1600 s (50 ... 103°C), o que é indicado pela ascendência contínua da curva vermelha nessa região, bem como pela ocorrência do “pico de arraste”. Em seguida, o arraste cai para o seu valor original de aprox.

Fig. 2: Fórmula estrutural e empírica do metamizol sódico em forma de monidrato.

Substância	Fórmula empírica	Massa molar [g/mol]	Ponto de fusão [°C]	Teor de água calculado [%]	Farmacopéia Européia		Determinação de água segundo Karl Fischer		
					Perda por secagem [%]	Peso da amostra [g], temperatura [°C]	Teor de água [%]	Desvio padrão relativo [%]	Temperatura do forno 774 [°C]
Cloridrato de bupivacaína	C ₁₈ H ₂₉ ClN ₂ O × H ₂ O	342,91	241 ... 244	5,25	4,5 ... 6,0	1.000, 100 ... 105	5,30	0,82	200
Carbidopa	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₄ × H ₂ O	244,25	203 ... 205	7,37	6,9 ... 7,9	1.000, 100 ... 105	7,17	0,35	150
Cloridrato de ciproheptadina	C ₂₁ H ₂₂ ClN × 1,5 H ₂ O	350,89	252 ... 253 (decomp.)	7,69	7,0 ... 9,0	1.000, vac. max. 0,7 kPa, 100 ... 105	7,65	1,02	150
Cloridrato de cisteína monoidratado	C ₃ H ₈ ClNO ₂ S × H ₂ O	175,64	≥ 170 (decomp.)	10,25	8,0 ... 12,0	1.000, 24 h vac. max. 0,7 kPa	10,33	0,30	150
Sulfato de diidralazina hidratado	C ₈ H ₁₂ N ₆ O ₄ S × 2,5 H ₂ O	333,31	≥ 160 (decomp.)	13,51	13,0 ... 15,0	1.000, 5 h vac. max. 0,7 kPa, 50	14,47	0,33	120
Lactato de etacridina monoidratado	C ₁₈ H ₂₁ N ₃ O ₄ × H ₂ O	361,40	≥ 180 (decomp.)	4,98	4,5 ... 5,5	1.000, vac., 100 ... 105	5,05	0,59	180
Cloridrato de histidina monoidratado	C ₆ H ₁₀ ClN ₃ O ₂ × H ₂ O	209,63	≥ 240 (decomp.)	8,59	7,0 ... 10,0	1.000, 145 ... 150	8,68	0,59	200
Levotiroxina sódica	C ₁₅ H ₁₀ I ₄ NNaO ₄ × H ₂ O	798,86 (substância anidra)	–	–	6,0 ... 12,0	0,100, 100 ... 105	9,68	1,30	150
Metamizol sódio	C ₁₃ H ₁₆ N ₃ NaO ₄ S × H ₂ O	351,36	220 ... 221 (decomp.)	5,12	4,9 ... 5,3	1.000, 100 ... 105	5,14	0,30	150
Cloridrato de metixeno	C ₂₀ H ₂₄ ClNS × H ₂ O	363,95	215 ... 217	4,94	4,0 ... 6,0	0,500, 138 ... 142	4,00	2,01	180
Cloridrato de morfina	C ₁₇ H ₂₀ ClNO ₃ × 3 H ₂ O	375,85	≥ 200 (decomp.)	14,37	12,0 ... 15,0	0,500, 130	13,83	0,44	180
Niclosamida monoidratada	C ₁₃ H ₈ Cl ₂ N ₂ O ₄ × H ₂ O	345,13	225 ... 230	5,07	4,5 ... 6,0	1.000, 4h 100 ... 105	5,22	1,27	130
Sulfato de quinidina	C ₄₀ H ₅₀ N ₄ O ₈ S × 2 H ₂ O	782,96	205 ... 208 (decomp.)	4,60	3,0 ... 5,0	1.000, 130	4,68	1,92	180
Cloridrato de quinina	C ₂₀ H ₂₅ ClN ₂ O ₂ × 2 H ₂ O	396,91	144 ... 155	9,07	6,0 ... 10,0	1.000, 100 ... 105	8,78	1,35	135
Sulfato de quinina	C ₄₀ H ₅₀ N ₄ O ₈ S × 2 H ₂ O	782,96	225 ... 229 (decomp.)	4,60	3,0 ... 5,0	1.000, 100 ... 105	4,63	0,33	130

Tabela 1: Resultados da determinação de água segundo Karl Fischer em fármacos selecionados da Farmacopéia Européia, teores de água calculados e informações sobre a perda por secagem segundo a Farmacopéia

10 mg/min e durante 3800 s permanece praticamente constante. A partir dos 5400 s (230°C) ambas as curvas apresentam uma subida íngreme. Evidentemente, há liberação de água por decomposição a partir desta temperatura.

Selecionou-se uma temperatura da região central do patamar da curva vermelha (150°C) como temperatura do forno para determinação do teor de água em metamizol sódico. Isto assegura que a água seja liberada rápida e completamente, sem decomposição.

Resultados

A Tab. 1 resume os resultados da determinação de água segundo Karl Fischer por meio do Processador de Amostras 774 com Forno para as 15 substâncias mais importantes entre os 40 fármacos investigados (os teores de água mostrados são os valores médios de três determinações). Para fins de comparação, a tabela também contém os teores de água teóricos (calculados) dos fármacos individuais, bem como informações sobre a perda por secagem indicada na Farmacopéia Européia.

A título de exemplo, a fig. 4 mostra a curva de titulação de cloridrato de morfina com forno à temperatura de 180°C. Uma curva corresponde novamente à quantidade absoluta de água liberada e a outra curva ao arraste correspondente. Os três "picos de arraste" mostram muito claramente que o cloridrato de morfina está presente na forma do seu triidrato. Depreende-se também das duas curvas que a substância pára de liberar água após aproximadamente 180 s. A subsequente leve ascensão da curva vermelha pode ser atribuída ao lento arraste de fundo (consumo branco). Recomenda-se geralmente adotar um prazo de extração de algo em torno de 5 a 10 min, a fim de assegurar que a determinação não pare cedo demais, especialmente se a amostra só liberar sua água de cristalização lentamente.

Discussão e conclusões

Os teores de água determinados pelo Processador de Amostras 774 com Forno e o Colorímetro 756 KF estão todos dentro dos intervalos especificados na Farmacopéia Européia. Em geral, a Farmacopéia indica um intervalo de recuperação muito amplo para a perda por secagem. No caso de cloridrato de quinina, por exemplo, especifica-se um intervalo de 66,2 a 110,3%, baseado no teor de água teórico (calculado). Em contraste, o sistema de forno proporciona uma excelente recuperação de 96,8% para esta substância.

Considerando-se todos os fármacos investigados, a recuperação com emprego do método de forno KF sempre se localiza entre 90 e 110%.

A repetitividade dos valores obtidos com o sistema de forno é, portanto, excelente. Pode-se observar isto nos desvios padrão relativos, todos entre 0,30 e um máximo de 2,0%.

Comparada com o método de estufa de secagem, a determinação de água segundo Karl Fischer com utilização do Processador de Amostras 774 com Forno e do Colorímetro 756 KF oferece ainda outras nítidas vantagens:

Determinações que normalmente levam várias horas podem ser executadas em 10 a 12 min. Além disso, o procedimento analítico é completamente automatizado.

Outro ponto a favor é a especificidade do método descrito, no qual se determina apenas a água liberada pela substância e não todos os outros componentes voláteis liberados naquela temperatura em particular.

Finalmente, a pequena quantidade de substância que se requer também é vantajosa. Este aspecto torna-se particularmente importante quando se trata de analisar fármacos muito dispendiosos. Enquanto a determinação da perda por secagem geralmente requer pesos de amostra de 1 g, o método KF com forno em combinação com o colorímetro KF requer apenas 15 a 30 mg. Além disso, como a substância não é destruída durante a determinação de água, ela ainda pode ser usada para outras investigações.

Endereços dos autores

Regina Schlink, Claudia Dengler, Dr. Peter Kirschenbühler: Metrohm Ltd., Oberdorfstrasse 68, CH-9101 Herisau, Suíça

Dr. Karl-Heinz Surborg: Instituto Farmacêutico da Universidade de Bonn, An der Immenburg 4, D-53121 Bonn, Alemanha

Literatura

- European Pharmacopoeia, 4th Edition (2002)
- K.-H. Surborg, A. Junkersdorf, Krankenhauspharmazie 22/6 (2001) 271–273
- K.-H. Surborg, A. Junkersdorf, Dtsch. Apoth. Ztg. 141/28 (2001) 61–63
- Metrohm Information 30/3 (2001) 3–4