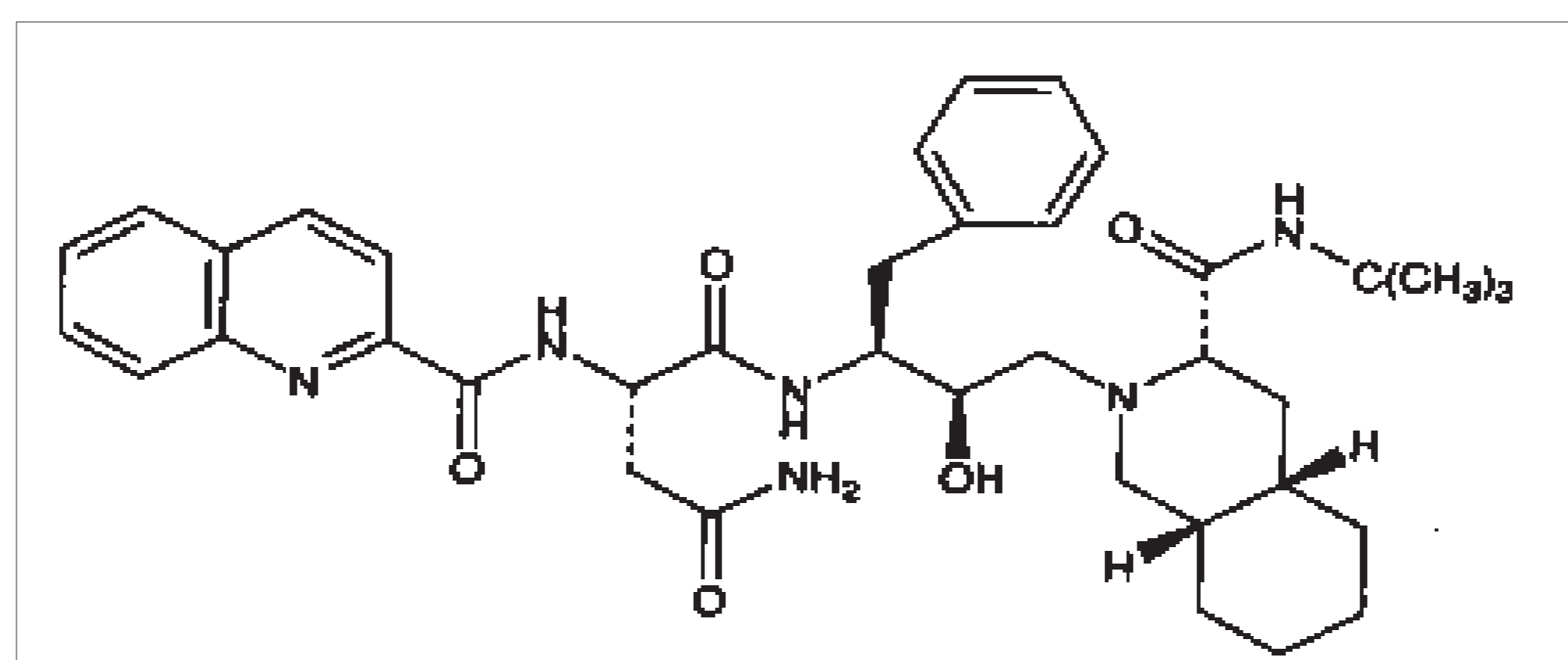




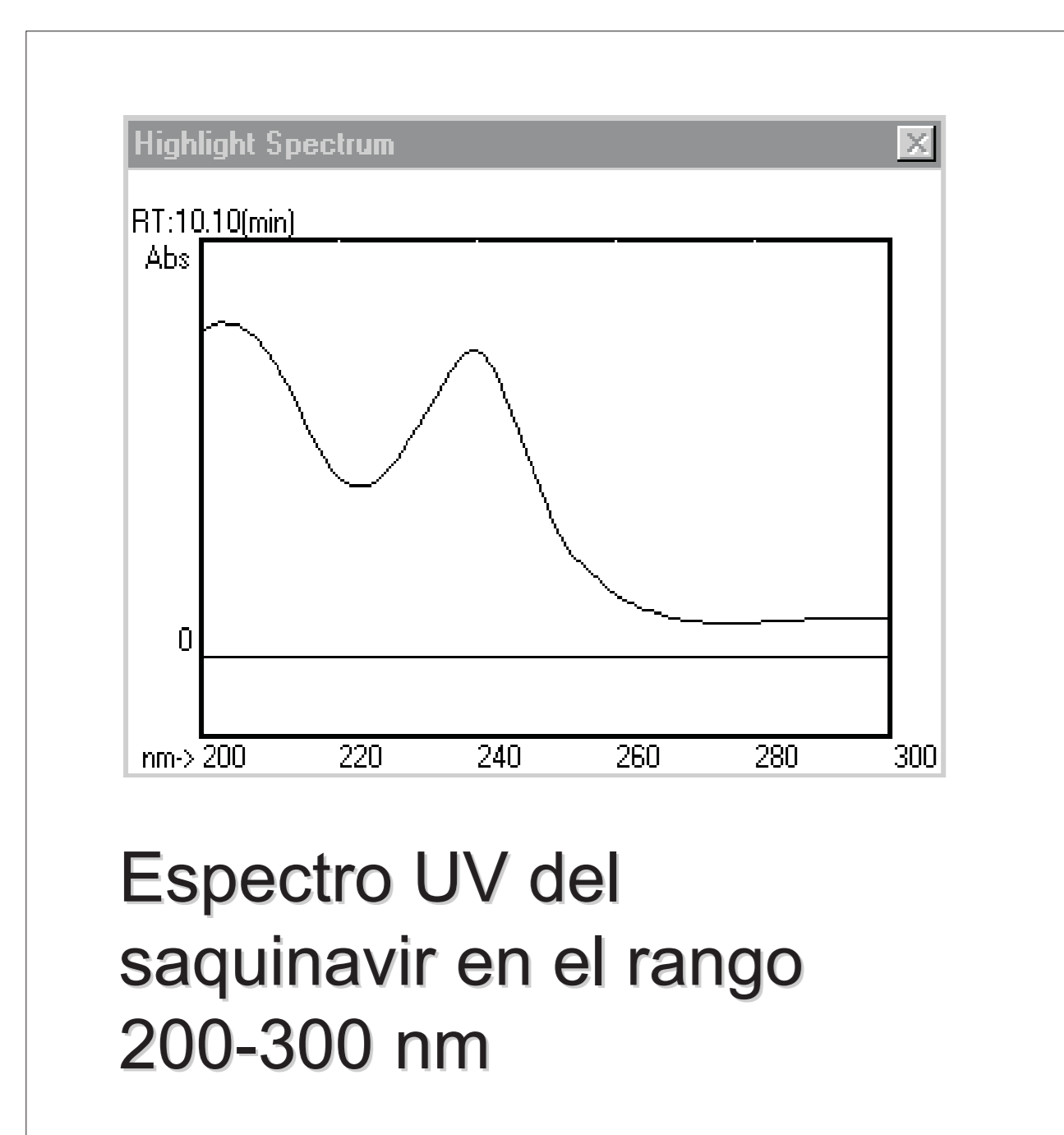
# Estudios de estabilidad en antivirales inhibidores de la proteasa del HIV. Parte I

Laura G. Hermida, Eduardo E. López, Ricardo Dománico, Javier Fernandez, Pablo D. Rouge Alicia Lagomarsino y Graciela Enriquez

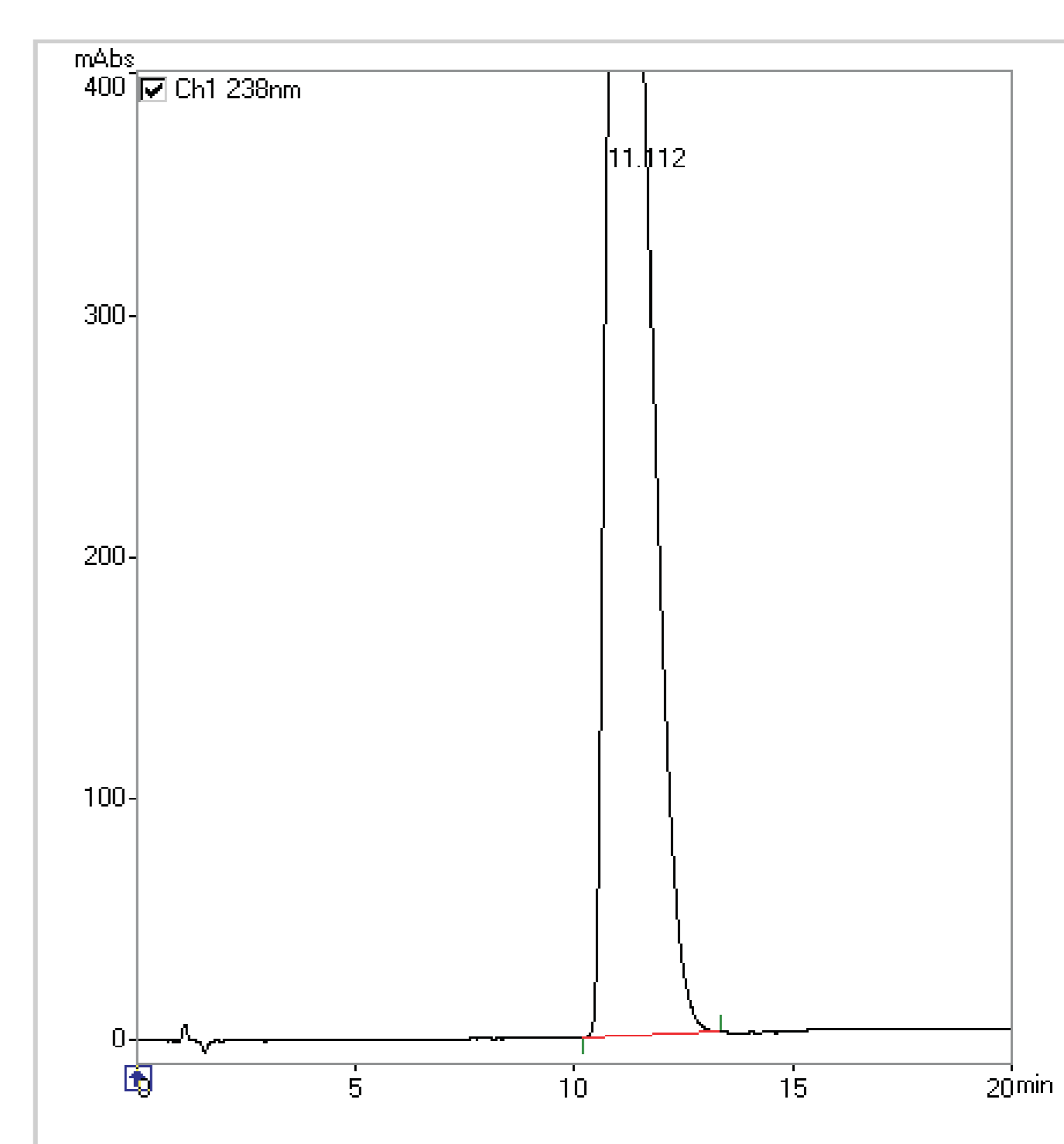
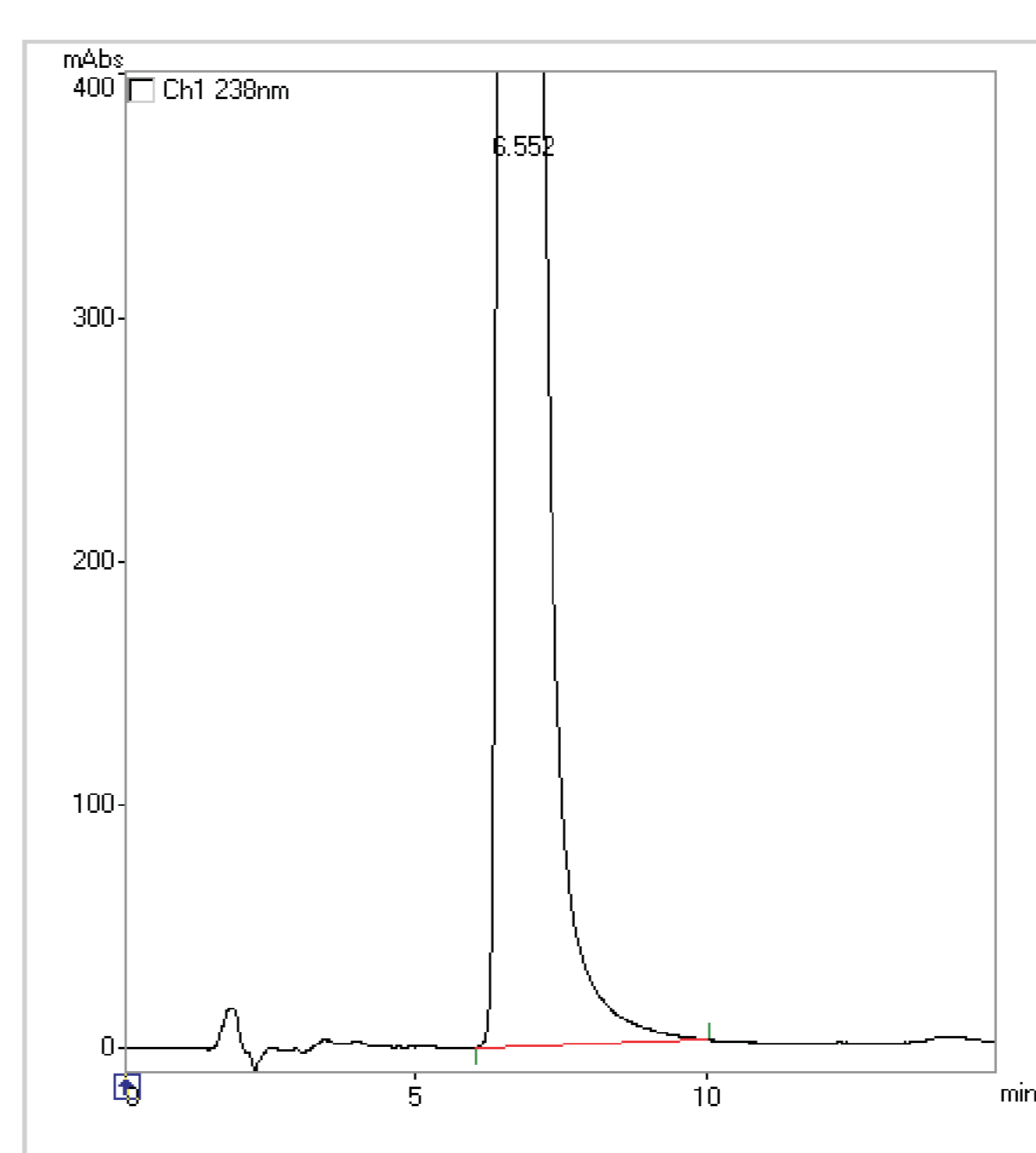
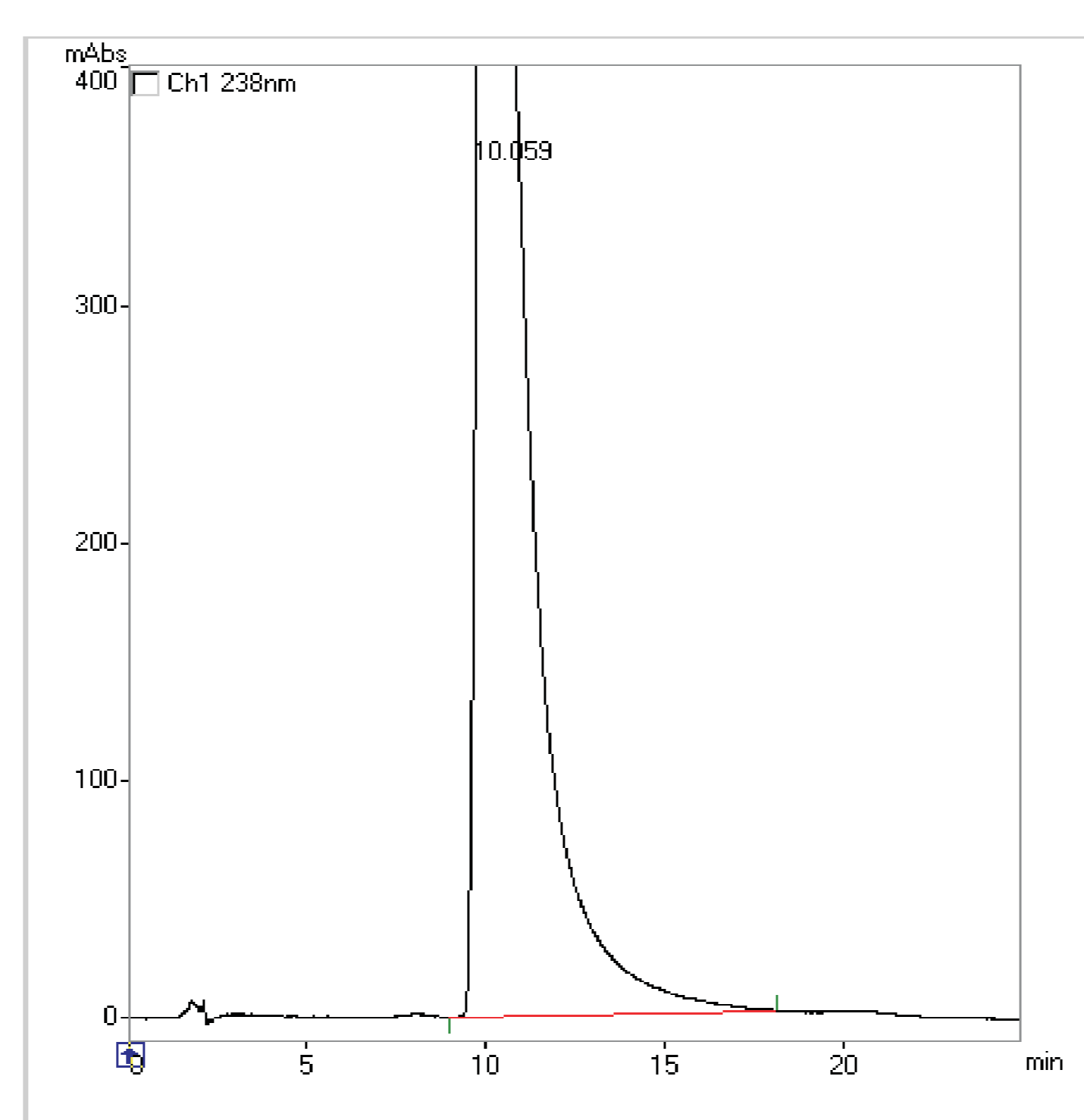
El **saquinavir** es un potente inhibidor selectivo para la proteasa del HIV (virus de la inmunodeficiencia humana). Su uso está ampliamente difundido en mezclas con otras drogas como el amprenavir, indinavir, nelfinavir y ritonavir. La droga fue patentada en 1991, y hasta la fecha no se han encontrado publicaciones que permitan el control de la misma como materia prima. La bibliografía hallada hace referencia al monitoreo de mezclas de antivirales en fluidos biológicos.



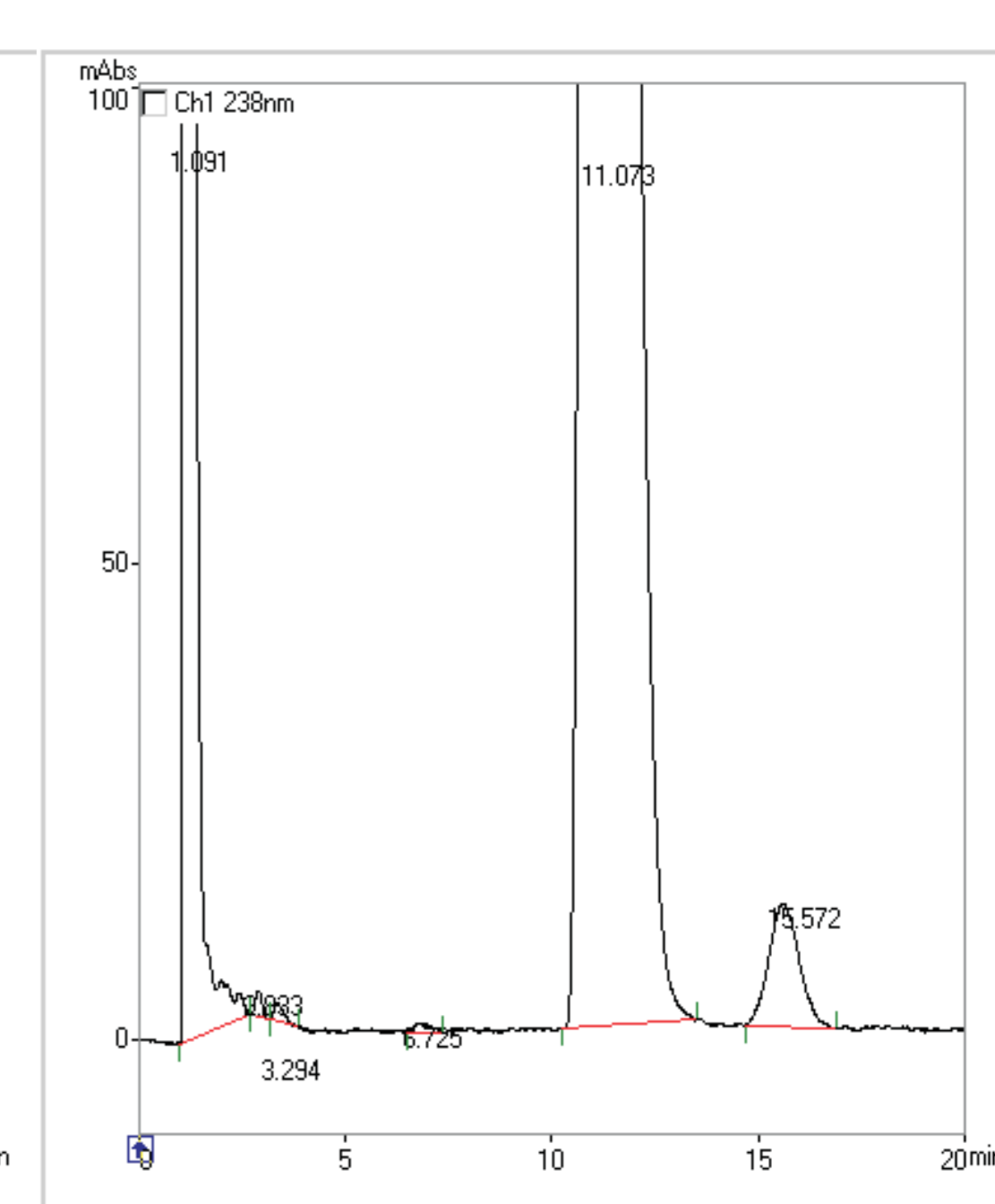
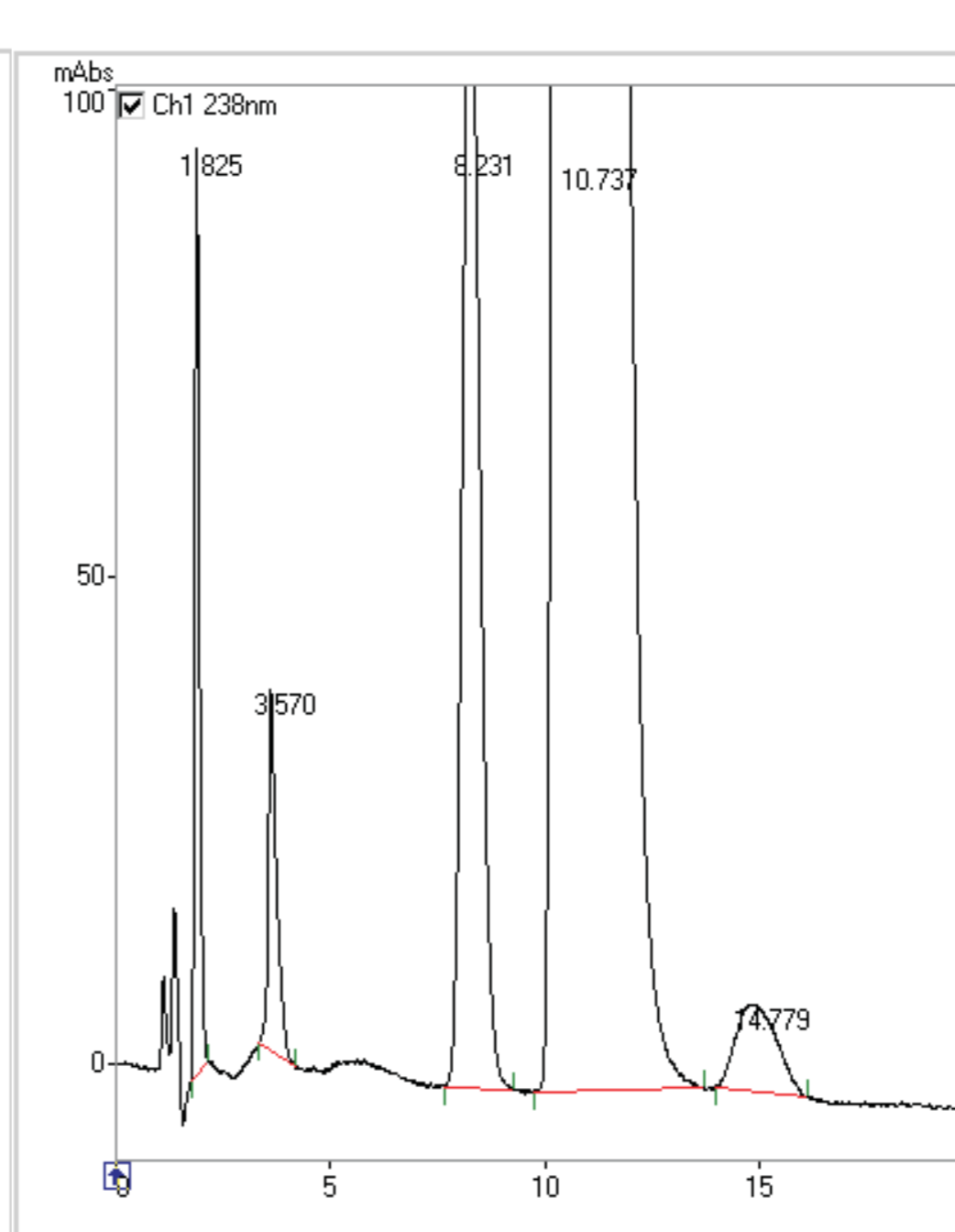
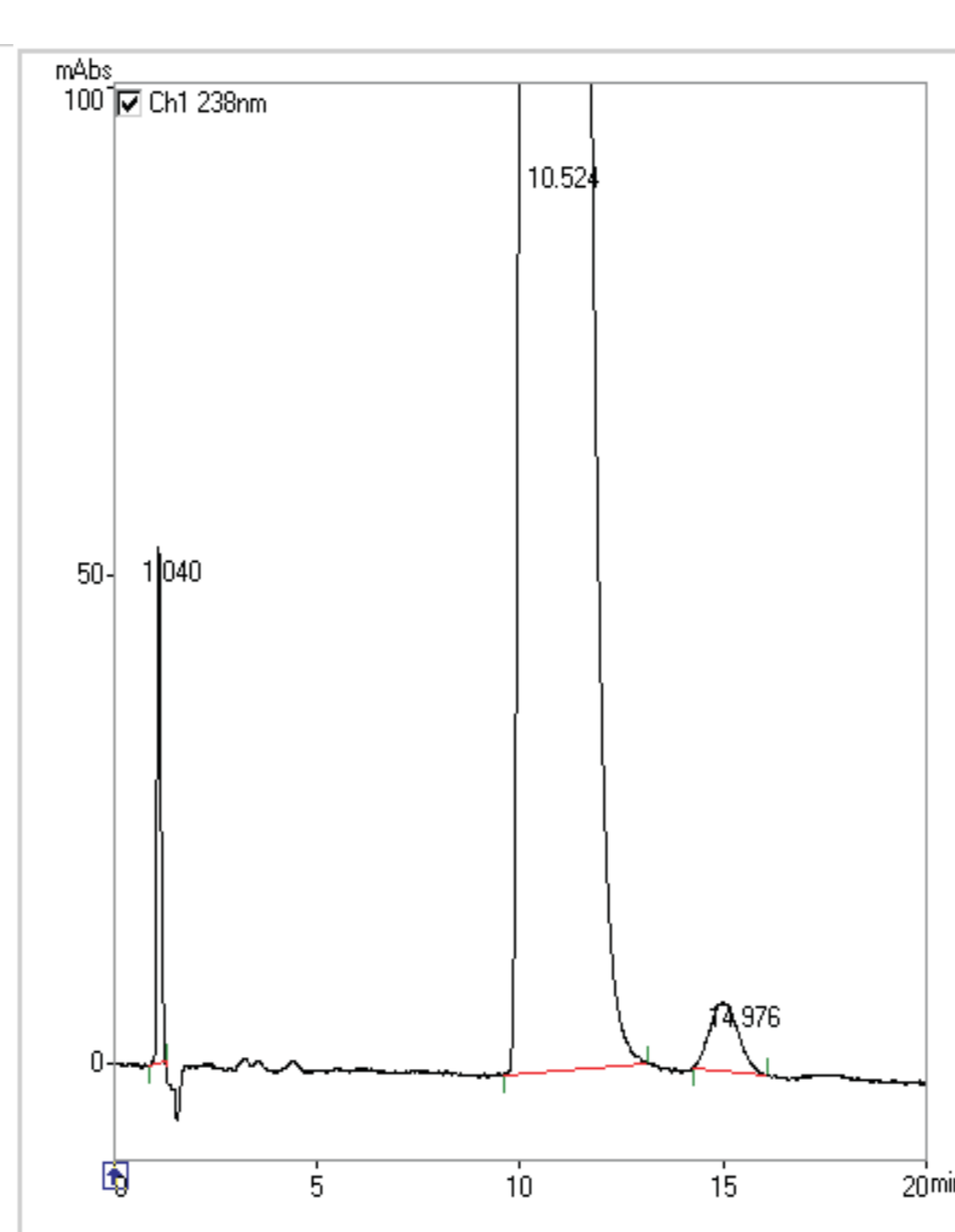
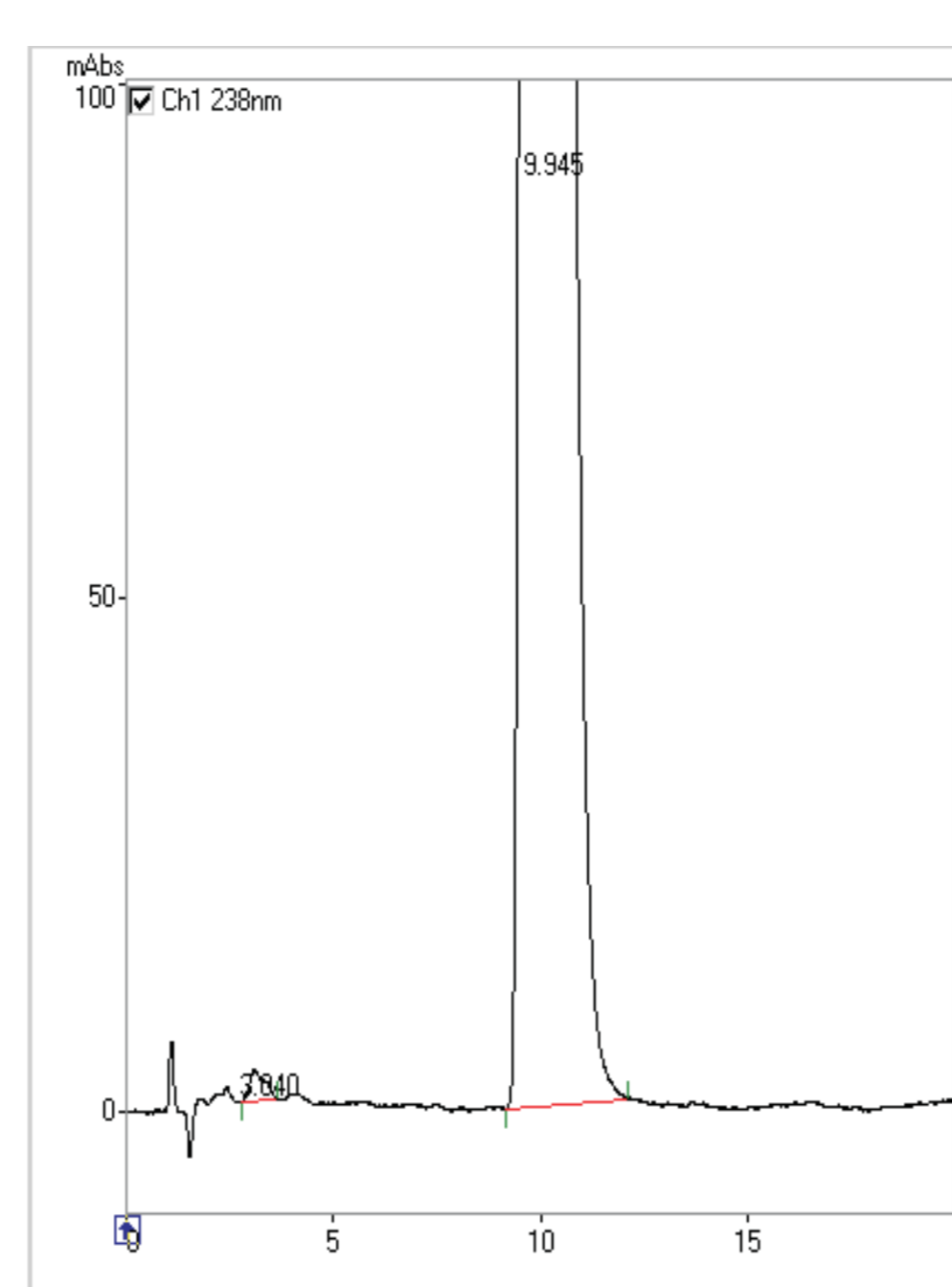
El **objetivo** de este trabajo es desarrollar un método HPLC que permita separar el saquinavir de sus productos de degradación, como una primera etapa de un estudio más profundo sobre la estabilidad de la droga. El método presentado resulta de gran utilidad para el control de materia prima así como del producto terminado.



## Optimización de las condiciones cromatográficas



## Ensayos de degradación forzada



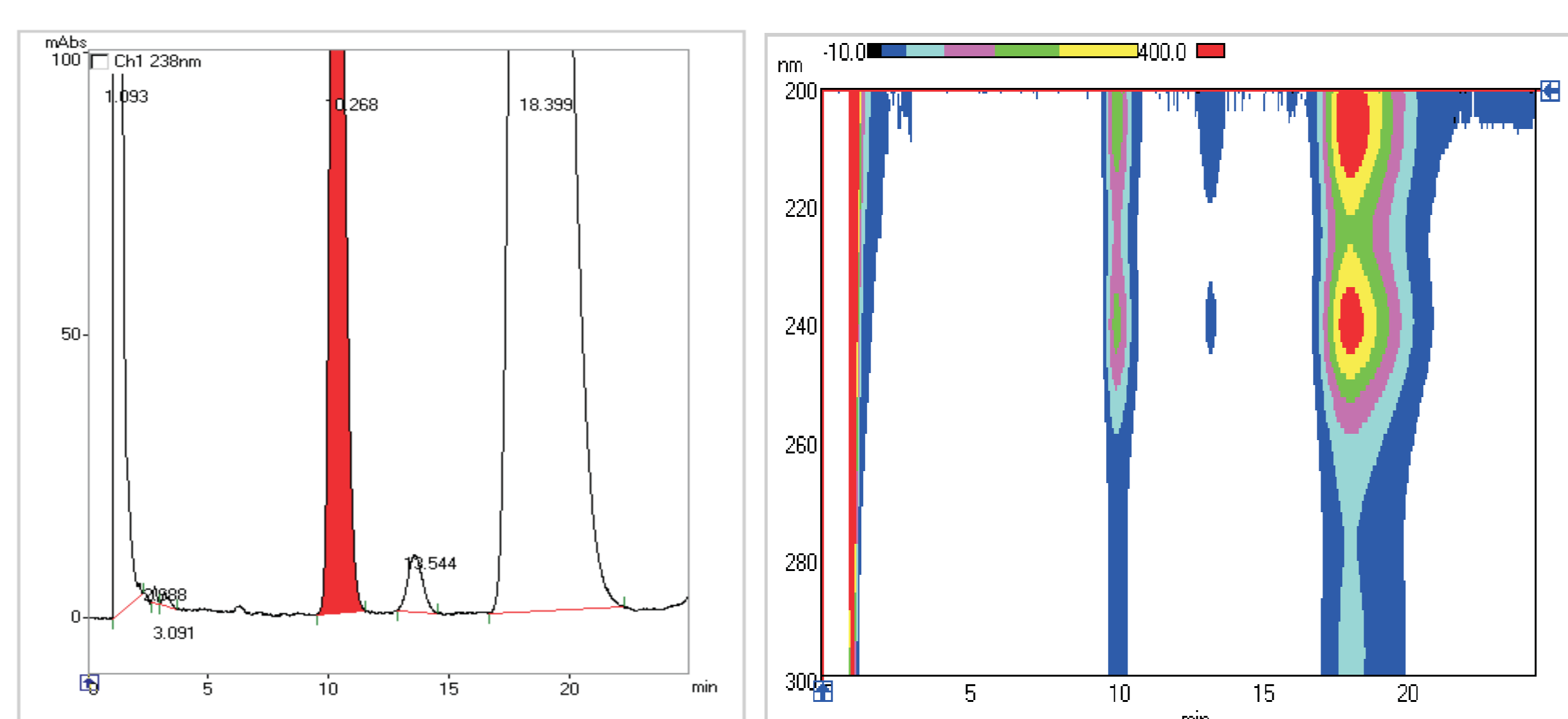
El **equipamiento** empleado consistió en un cromatógrafo líquido de alta performance con bomba WATERS modelo 510 y detector por arreglo de fotodiodos SHIMADZU SPD-M6A, que permitió monitorear cada sustancia en un rango de longitudes de onda.

En cuanto a la **preparación** de las muestras, se trabajó en todos los casos con soluciones conteniendo entre 0,6 y 0,8 mg de saquinavir por ml. En la optimización del método se empleó metanol-fase móvil (50:50) como solvente de dilución. Para la degradación forzada se sometió al tratamiento indicado en cada caso y luego se diluyó con metanol hasta la concentración óptima. El tratamiento térmico se realizó sobre la droga tal cual, disuelta posteriormente en metanol-fase móvil (50:50).

## Condiciones resultantes:

Columna: Lichrospher 60 RP Select B 125 x 4 mm 5 µm  
Fase móvil: Acetonitrilo-TEA 30m M pH= 3,0 (55:45)  
Longitud de onda: 238 nm  
Caudal: 1 ml/min  
Volúmen de inyección: 20 µl

## Estudio de degradación en medio oxidante (Ejemplo)



Condición de degradación : H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% durante 72 hs.

En rojo se indica el pico del saquinavir (tr=10,3 min), con una degradación del 85%. Como impureza principal aparece una sustancia a tr=18,4 min, con un espectro UV que coincide con el del saquinavir en un 99%, y probablemente menos polar que el mismo (mayor tiempo de retención en RP-HPLC). Aparece asimismo una impureza a tr=1,1 min de mayor polaridad, cuyo espectro difiere del espectro del saquinavir. La tercera impureza en importancia también aparece en otras condiciones de degradación entre los 14 y 15 minutos. Tiene características similares a la impureza principal.



## Conclusiones:

Se ha desarrollado un método que permite determinar saquinavir en presencia de sus principales impurezas de degradación. La etapa inmediata en las mismas condiciones cromatográficas es evaluar la acción de la radiación UV-visible, la acción prolongada de la temperatura, y la degradación en medio reductor.

Si bien se empleó un detector de arreglo de fotodiodos con el cual se obtuvieron espectros ultravioletas de los productos de degradación del saquinavir, éstos no permiten caracterizar a los mismos para determinar la naturaleza de cada proceso.

Por lo tanto, la etapa final de estudio de estabilidad consistirá en identificar las sustancias generadas mediante el empleo de la cromatografía líquida acoplada a un detector de masa (LC-MS).