**TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA NA PRODUÇÃO DE VACINAS: IMPLEMENTAÇÃO DO CONTROLE DE QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICO E ANÁLISE DE PUREZA DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO**

**Camila Carane Bitencourt Brito1**;Rodrigo Souza Conceição2; Bruna Aparecida Souza Machado2

1Bolsista CNPQ; e-mail: camila.brito@fbter.org.br

2 Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; e-mail: brunam@fieb.org.br

**RESUMO**

A transferência de tecnologia para produção de vacinas é crucial para garantir o combate de doenças infecciosas em escala global. Assim, dentre os diversos requisitos para que essa produção seja realizada de forma segura destaca-se a implementação do controle de qualidade, que envolve desde a aquisição da matéria-prima e qualificação de fornecedores até a realização dos ensaios microbiológicos e físico-químicos. Dessa maneira, o objetivo do trabalho foi demonstrar o ensaio de pureza empregado no controle de qualidade do hidróxido de sódio, um dos insumos adquiridos para a produção da vacina RNA MCTI CIMATEC HDT. Desse modo, determinou-se o limite de carbonatos presente na amostra em estudo conforme descrição em compêndio oficial, obtendo-se resultado compatível com as especificações vigentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** hidróxido de sódio; qualidade; pureza; vacina;

**1. INTRODUÇÃO**

 O desenvolvimento de vacinas é um dos grandes objetivos da medicina, considerando uma estratégia custo-efetiva para redução da incidência global de doenças infecciosas1. A inovação em vacina requer uma série de expertises, o que inclui inicialmente uma demanda da sociedade, investimento em pesquisa, propriedade intelectual, produção, além da necessidade de garantir a qualidade e concordância com as normas regulatórias1. Nessa perspectiva, destaca-se a transferência de tecnologia como sendo de suma importância para suprir a demanda nacional por vacinas e um dos caminhos mais rápidos para atingir a tecnologia necessária para a produção de vacinas2. Nesse sentido, a HDT BioCorp, em parceira com o SENAI-CIMATEC e Ministério da Saúde, desenvolveu a vacina RNA MCTI CIMATEC HDT que encontra-se em investigação para a COVID-19 e em processo de transferência de tecnologia para o Brasil.

 Nesse contexto, inúmeras etapas devem ser seguidas para que seja possível realizar esse processo garantindo a segurança do produto desenvolvido. Dentre elas, o controle de qualidade físico-químico das matérias-primas e do produto acabado é um requisito primordial, preconizado pela RDC 658/2022 de boas práticas de fabricação de medicamentos3. Essa etapa abrange, dentre muitas recomendações, a revisão de literatura e desenvolvimento de todos os ensaios para a amostra de interesse a fim de comprovar a conformidade da matéria-prima com as especificações de qualidade vigente. Diante do exposto, haja vista o processo de transferência de tecnologia e a necessidade de produção de vacinas no território brasileiro, o presente trabalho teve como objetivo a implementação de ensaios de qualidade, sendo demonstrado a seguir um ensaio de pureza para a quantificação de carbonatos presente na amostra hidróxido de sódio.

**2. METODOLOGIA**

 As análises foram realizadas no Laboratório de Formulações Farmacêuticas do SENAI-CIMATEC e os ensaios foram realizados conforme descrito na monografia do hidróxido de sódio, IF224-00, da Farmacopéia Brasileira 6° edição4.

2.1 Descrição da amostra

 Para análise do aspecto da amostra adicionou-se 1mg de hidróxido de sódio (exodo®) em um tubo de ensaio e observou-se o aspecto e coloração.

2.2 Determinação de pH

 Para determinar o pH preparou-se uma solução aquosa a 0,01% (p/v). A diluição da amostra foi realizada com água isenta de dióxido de carbono. A leitura de pH foi realizada com o auxílio do pHmetro FP20 Five Easy Plus Mettler Toledo®.

**2.3 Limite de Carbonatos**

As soluções empregadas no ensaio foram preparadas conforme descrição a seguir:

 **2.3.1. Ácido clorídrico M SV:**

 A solução volumétrica (SV) foi preparada adicionando-se 85ml de ácido clorídrico, lentamente, em água isenta de dióxido de carbono, o suficiente para obtenção de 1000ml de solução aquosa**.**  A padronização da solução foi realizada em duplicada e cada amostra de 1,5g de carbonato de sódio anidro foi submetida a secagem em estufa a 120°C por 1 hora. Acrescentou-se 100 mL de água e duas gotas de solução indicadora (SI) de vermelho de metila. Adicionou-se, lentamente, o ácido clorídrico M SV, a partir de bureta, até coloração rósea fraca. A solução foi aquecida e ao iniciar a ebulição, a solução foi retirada do aquecimento, resfriada em temperatura ambiente para continuar a titulação. Essa sequência de operações foi repetida até que o aquecimento não afetasse mais a coloração rósea. O cálculo de molaridade foi realizado considerando-se que a cada 52,99 mg de carbonato de sódio (Na2CO3) equivalem a 1 mL de ácido clorídrico M.

 **2.3.2 Vermelho de metila SI:**

 A solução indicadora foi preparada a partir da mistura de 0,1g de vermelho de metila, com 1,85 mL de hidróxido de sódio 0,2 M e 5 mL de álcool etílico a 90% (v/v). A solução foi aquecida a 40°C por 15min. Após solubilização, completou-se o volume para 250 mL com álcool etílico a 50% (v/v). Para o ensaio de sensibilidade da solução indicadora utilizou-se 0,1 mL de vermelho de metila SI, 100 mL de água isenta de dióxido de carbono, 0,05 mL de ácido clorídrico 0,02 M e observou-se a mudança de coloração para amarela a partir da adição de 0,1 mL de hidróxido de sódio 0,02 M.

 **2.3.3 Fenolftaleína SI:**

 A solução indicadora foi preparada a partir da dissolução de 0,1 g em 100 mL de álcool etílico a 80% (v/v). Para o ensaio de sensibilidade preparou-se a solução de 0,1 mL de fenolftaleína SI em 1000 mL de água isenta de dióxido de carbono e observou-se a mudança de coloração de incolor para rosa a partir da adição de 0,2 ml de hidróxido de sódio 0,02M.

 **2.3.4 Alaranjado de metila SI:**

 A solução indicadora foi preparada a partir da dissolução de 0,1 g de alaranjado de metila em 100 mL de álcool etílico a 20% (v/v). Para o ensaio de sensibilidade utilizou-se 0,1 mL de solução indicadora com 100 mL de água isenta de dióxido de carbono e observou-se a mudança da cor amarela para vermelha a partir da adição de 1 mL de ácido clorídrico 0,1 M.

 **2.3.5 Procedimento para determinação de limite de carbonatos:**

 **O ensaio de pureza foi realizado em duas etapas, conforme descrito a seguir:**

1° etapa: Foram dissolvidos 2 g da amostra em 80 mL de água isenta de dióxido de carbono. Logo em seguida, adicionou-se 0,3ml de fenolftaleína SI e realizou-se a titulação com ácido clorídrico M SV até mudança de coloração.

2° etapa: Adicionou-se 0,3 mL de solução de alaranjado de metila SI e realizou-se novamente a titulação com ácido clorídrico M SV até mudança de coloração.

Os cálculos foram realizados considerando que para cada mL de ácido clorídrico M SV empregado na etapa 2 da titulação equivale a 0,1060 g de Na2CO3, e cada mL do ácido clorídrico M SV empregado na titulação total (etapa 1 e 2) equivale a 40 mg do total da base, na forma de NaOH. Os experimentos foram realizados em duplicada e utilizou-se a média das análises para cálculo da porcentagem de carbonato.

**3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

 O hidróxido de sódio apresentou-se na forma de massa cristalina branca no formato de esferas. A solução da amostra apresentou pH 11, o que descreve um meio básico, de acordo com as especificações vigentes.

3.1 Limite de carbonato

 O hidróxido de sódio (NaOH) é classificado como uma base e pode facilmente reagir com um óxido ácido como dióxido de carbono5 (CO2), formando carbonato de sódio (Na2CO3) e água (H2O), segundo equação descrita a seguir:

**2 NaOH(s) + CO2(g) → Na2CO3(s) + H2O(l) (Equação 1)**

 Logo, faz-se necessário verificar a ocorrência dessa reação e se o teor de carbonato encontra-se dentro dos limites estabelecidos na legislação para garantir a qualidade da amostra utilizada nas etapas de produção da vacina.

 A quantificação foi baseada na volumetria ácido-base com a adição de soluções indicadoras de fenolftaleína e alaranjado de metila procedendo-se em duas etapas, sendo o ácido clorídrico, previamente padronizado, empregado como agente titulante. Na 1° etapa da titulação do hidróxido de sódio com ácido clorídrico (Equação 2) observou-se o ponto de viragem após a adição de 49,5ml de HCl, evidenciado pela mudança da coloração rósea para incolor (Figura 1A e 1B). Na 2° etapa da titulação, com a adição do alaranjado de metila observou-se coloração amarelo alaranjado (Figura 1-C) com ocorrência da viragem após titulação de 0,1ml de HCl (Figura 1-D).

Figura 1: Titulação do hidróxido de sódio com ácido clorídrico. (A) Início da 1° etapa da titulação (B) Final da 1° etapa da titulação (C) Início da 2° etapa de titulação (D) Final da 2° etapa de titulação



Para a primeira etapa da titulação tem-se completa neutralização do hidróxido de sódio (Equação 2) e na segunda etapa, com o alaranjado de metila, ocorre a neutralização do carbonato presente na amostra (Equação 3), conforme representação abaixo:

**NaOH(s) + HCl(l) → NaCl(s) + H2O(l) (Equação 2)**

**Na2CO3(s) + HCl(l) → NaHCO3(s) + NaCl(s) (Equação 3)**

O limite de aceitação para carbonatos é de no máximo 2,0% e a porcentagem obtida na análise foi de 0,4% (±0,019), evidenciando que a amostra encontra-se em conformidade com as especificações para o ensaio de pureza descrito.

**4. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

O presente trabalho descreveu o ensaio de pureza para o controle de qualidade físico-químico do hidróxido de sódio e evidenciou conformidade com as especificações vigentes. Vale destacar que as análises fazem parte da implementação do controle de qualidade físico-químico da formulação LION, adjuvante da vacina RNA MCTI CIMATEC HDT e encontra-se em processo de transferência de tecnologia. Novos ensaios estão em desenvolvimento e serão realizados para completar a análise de qualidade da amostra de interesse.

**Agradecimentos**

Ao CNPQ pelo financiamento do projeto e ao SENAI-CIMATEC pela estrutura disponibilizada para desenvolvimento das análises.

**5. REFERÊNCIAS**

1 VAN DE BURGWAL, L.H.M. et al. **Towards improved process efficiency in vaccine innovation:** The vaccine Innovation Cycle as a validated, conceptual stage-gate model. Vaccine, 2018.

2 HAMIDI,A. et al. **Lessons learned during the development and transfer of technology related to a new Hib conjúgate vaccine to emerging vaccine manufactures**. Vaccine, 2014.

3 BRASIL.MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 658, de 30 de março de 2022**. Dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de medicamentos. Diário Oficial da União. Brasília.2022.

4 AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITARIA. Farmacopeia Brasileira, 6° ed. 2019.

5MELLO, L.C.et al. **Metodologia Experimental para reações gás-líquido**. Quimica Nova.2016