

**CENTRO UNIVERSITÁRIO DE FORMIGA  
CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA**

**THIAGO VINÍCIUS BORGES**

**DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA ANALÍTICA POR  
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA PARA MONITORAR OS  
PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO NO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO  
OXALATO DE ESCITALOPRAM**

THIAGO VINÍCIUS BORGES

DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA ANALÍTICA POR  
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA PARA MONITORAR OS  
PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO NO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO OXALATO  
DE ESCITALOPRAM

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao  
Curso de Engenharia Química do UNIFOR-MG,  
como requisito parcial para obtenção do título de  
bacharel em Engenharia Química.

Orientador: Me. Antônio J. dos Santos Júnior.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Biblioteca UNIFOR-MG

B732 Borges, Thiago Vinícius.

Desenvolvimento de uma metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência para monitorar os produtos de degradação no insumo farmacêutico ativo oxalato de escitalopram / Thiago Vinícius Borges. – 2018.

61 f.

Orientador: Antônio José dos Santos Junior.

Trabalho de Conclusão de Curso (Engenharia Química) - Centro Universitário de Formiga - UNIFOR, Formiga, 2018.

1. Escitalopram. 2. Estudo de degradação. 3. Perfil de degradação.  
I. Título.

CDD 543.8

Catalogação elaborada na fonte pela bibliotecária  
Regina Célia Reis Ribeiro – CRB 6-1362

DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA ANALÍTICA POR  
CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIENCIA PARA MONITORAR OS  
PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO NO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO OXALATO  
DE ESCITALOPRAM

Trabalho de conclusão de curso apresentado  
ao curso de Engenharia Química do UNIFOR-  
MG, como requisito parcial para obtenção do  
título de bacharel em Engenharia Química.

BANCA EXAMINADORA

*Antônio José dos Santos Júnior*

Prof. Ms. Antônio J. dos Santos Júnior

Orientador

*Rodrigo Duarte Silva*

Prof. Dr. Rodrigo Duarte Silva

UNIFOR-MG

*Roslene Pimenta*

Prof.<sup>a</sup> Roslene Gonzaga de Jesus Pimenta

UNIFOR-MG

Lagoa da Prata, 14 de novembro de 2018

Fármacos são insumos farmacêuticos que possuem potencial terapêutico no diagnóstico, prevenção e tratamento de uma doença ou para alívio de seus sintomas. O oxalato de escitalopram atua no sistema nervoso central humano e deve ter sua integridade comprovada a partir de testes analíticos de alta performance e confiabilidade técnica, principalmente no que se refere ao teor de impurezas e produtos de degradação, os quais podem exercer potencial tóxico ao organismo humano ou mesmo inviabilizar a ação esperada do medicamento. No âmbito do controle de qualidade do fármaco, o estudo de estabilidade se destaca dos demais por simular a vida de prateleira do medicamento em situações normais e extremas, as quais este produto poderia ser exposto, sendo possível assim monitorar de maneira confiável o aparecimento ou evolução de compostos de degradação, formados, principalmente, a partir de reações orgânicas de decomposição do insumo ativo de hidrólise, oxidação, fotólise, termólise, entre outras. Para monitorar os níveis dos produtos de degradação é necessário o desenvolvimento de uma metodologia analítica indicativa de estabilidade. Para tanto, este trabalho traz uma proposta de técnica por cromatografia líquida de alta performance que é capaz de monitorar simultaneamente e seletivamente os principais produtos de degradação do insumo ativo oxalato de escitalopram descritos em trabalhos científicos e compêndios oficiais, o que permitiu a elaboração do perfil de degradação potencial do fármaco, que compreende os compostos conhecidos Composto Relacionado A de Citalopram, Composto Relacionado B de Citalopram, Composto Relacionado C de Citalopram, Composto Relacionado E de Citalopram, Diol de Escitalopram e Ácido Carboxílico de Escitalopram, bem como alguns produtos de degradação desconhecidos de menor expressão, informações de extrema relevância para prover o desenvolvimento ideal da composição da formulação e escolha acertada dos materiais de embalagem primária, além de fornecer informações importantes quanto ao uso e armazenamento ao paciente final através da bula do medicamento.

Palavras-chave: Escitalopram. Estudo de degradação. Perfil de degradação.

## ABSTRACT

Drugs are pharmaceutical supplies that have therapeutic potential in the diagnosis, prevention and treatment of a disease or alleviating its symptoms. Escitalopram Oxalate works in the human central nervous system and its integrity must be ensured by analytical tests of high performance and technical reliability, especially the content of impurities and degradation products, which may produce toxic potential to the organism or reducing the expected action of the drug. In the scope of drug quality control, the stability study stands out from the others by simulating the shelf life of the drug in normal and extreme situations in which this product could be exposed, thus being able to reliably monitor the formation or growing of degradation compounds, formed mainly from organic decomposition reactions of the active hydrolysis, oxidation, photolysis, thermolysis, among others. To monitor the levels of the degradation products it is necessary to develop an analytical methodology indicative of stability. In order to do that, this work proposes a technique for high performance liquid chromatography capable of simultaneously and selectively monitoring the main degradation products of the active Oxalate of Escitalopram described in scientific works and official compendia, which ensured the elaboration of the potential degradation profile of the drug, composed by the known compounds Citalopram A Related Compound, Citalopram Related Compound B, Citalopram C Related Compound, Citalopram Related Compound E, Escitalopram Diol, and Escitalopram Carboxylic Acid, as well as some degradation products unknown of minor expression. Extremely relevant information to provide optimal formulation composition and choice of primary packaging materials and to provide important information on the use and storage of the final product through the package insert.

Keywords: Escitalopram. Degradation study. Degradation profile.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema genérico de uma reação de hidrólise .....	28
Figura 2 - Relação entre os perfis de degradação para um IFA.....	32
Figura 3 - Diagrama genérico de um instrumento de CLAE .....	34
Figura 4 - Estrutura molecular do Escitalopram .....	36
Figura 5 - Estrutura molecular do isômero R de Citalopram .....	37
Figura 6 - Estrutura molecular do Oxalato Escitalopram .....	37
Figura 7 - Balança XPS205 da marca Mettler Toledo .....	39
Figura 8 - Aparelho de ultrassom .....	39
Figura 9 - Cromatógrafo líquido Agilent 1260.....	40
Figura 10 - Coluna cromatografica Symmetry .....	41
Figura 11 - Câmara de fotoestabilidade .....	41
Figura 12 - Estufa de aquecimento Valcrom .....	42
Figura 13 - Gráfico da injeção de todos compostos de interesse no método proposto .....	48
Figura 14 - Gráfico da amostra controle.....	50
Figura 15 - Oxalato de escitalopram exposto à hidrólise neutra.....	50
Figura 16 - Oxalato de escitalopram exposto à hidrólise ácida por 96 horas. ....	51
Figura 17 - Oxalato de escitalopram exposto à hidrólise básica por 15 minutos.....	52
Figura 18 - Oxalato de escitalopram exposto a oxidação por 24 horas.....	52
Figura 19 - Oxalato de escitalopram exposto à catálise metálica por 24 horas. ....	53
Figura 20 - Oxalato de escitalopram exposto à estresse fotolítico por 10 dias. ....	54
Figura 21 - Oxalato de escitalopram exposto à estresse termico por 10 dias. ....	54
Fluxograma 1- Arvore de decisões para a sensibilidade do medicamento ou insumo à radiação luminosa .....	30
QUADRO 1 - Limites de notificação, identificação e qualificação de produtos de mknbjnbjnskbksdegradação .....	19
QUADRO 2 - Resumo dos objetivos do estudo de estabilidade por classe .....	24
QUADRO 3 - Esquema de exposição das amostras.....	49

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Zonas climáticas para estudos de estabilidade de produtos farmacêuticos .....	22
Tabela 2 - Condições típicas de exposição dos insumos farmacêuticos.....	26
Tabela 3 - Padrões de impurezas conhecidas empregadas no estudo.....	42
Tabela 4 - Reagentes disponíveis para o estudo .....	43
Tabela 5 - Proporção do gradiente de fase móvel em função do tempo .....	44

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

°C	Graus Celsius
ATD	Administração total diária
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATD	Administração total diária
CLAE	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência
CRQ	Conselho Regional de Química
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
g	Grama
mg	Miligrama
mL	Mililitro
ICH	<i>International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use</i>
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
L <sup>-1</sup>	Litro
OMS	Organização Mundial da Saúde
pH	Potencial Hidrogeniônico
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SADC	<i>Southern African Development Community</i>
USP	Farmacopéia Americana

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>11</b>
1.1	Objetivos	12
1.1.1	Objetivo geral	12
1.1.2	Objetivos específicos	12
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO</b>	<b>14</b>
2.1	Medicamentos	14
2.1.1	Controle de qualidade de um medicamento	15
2.2	Forma Farmacêutica	15
2.2.1	Sólidos orais comprimidos	16
2.2.2	Excipientes	16
2.2.3	Insumo farmacêutico ativo	17
2.2.3.1	Impurezas	17
2.2.4	A Integridade de um medicamento	18
2.3	Estudos de estabilidade e estabilidade farmacêutica	20
2.3.1	Classes dos estudos de estabilidade	23
2.3.2	Estudo de degradação forçada	24
2.3.2.1.1	Termólise	26
2.3.2.1.2	Hidrólises	27
2.3.2.1.3	Oxidação	28
2.3.2.1.4	Fotólise	29
2.4	Perfil de degradação	30
2.5	Desenvolvimento de um método analítico	32
2.5.1	Seletividade	33
2.5.2	Cromatografia líquida de alta eficiência	33

2.5.2.1 Funcionamento do cromatografo líquido .....	34
2.6 Escitalopram.....	36
3 METODOLOGIA.....	38
3.1 Instrumentação.....	38
3.1.1 Balança analítica.....	39
3.1.2 Ultrassom.....	39
3.1.3 Cromatógrafo líquido de alta eficiência.....	40
3.1.4 Coluna cromatográfica.....	40
3.1.5 Câmara de fotoestabilidade .....	41
3.1.6 Estufa de aquecimento.....	41
3.2 Padrões de referência.....	42
3.2.1 Padrão de oxalato de escitalopram.....	42
3.3 Reagentes .....	43
3.4 Metodologia analítica proposta.....	44
3.4.1 Preparo das soluções.....	44
3.4.1.1 Solução de impurezas conhecidas.....	45
3.4.1.2 Preparo das soluções do Estudo de Degradação Forçada (estresse) .....	45
3.4.1.2.1 Estresse hidrolítico não catalisado (hidrólise neutra).....	45
3.4.1.2.2 Estresse hidrolítico catalisado por pH ácido (hidrólise ácida) .....	46
3.4.1.2.3 Estresse hidrolítico catalisado por pH alcalino (hidrólise básica) .....	46
3.4.1.2.4 Estresse hidrolítico catalisado metal transição (hidrólise catalisada)....	46
3.4.1.2.5 Estresse oxidativo (oxidação).....	47
3.4.1.2.6 Estresse fotolítico .....	47
3.4.1.2.7 Estresse térmico .....	47
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	48
4.1 Seletividade para as impurezas conhecidas.....	48

<b>4.2</b>	<b>Estudo de degradação forçada</b>	<b>49</b>
<b>4.2.1</b>	<b>Amostra controle</b>	<b>49</b>
<b>4.2.2</b>	<b>Hidrólise neutra</b>	<b>50</b>
<b>4.2.3</b>	<b>Hidrólise ácida</b>	<b>51</b>
<b>4.2.4</b>	<b>Hidrólise básica</b>	<b>51</b>
<b>4.2.5</b>	<b>Oxidação</b>	<b>52</b>
<b>4.2.6</b>	<b>Hidrólise catalisada</b>	<b>53</b>
<b>4.2.7</b>	<b>Fotólise</b>	<b>53</b>
<b>4.2.8</b>	<b>Termólise</b>	<b>54</b>
<b>5</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>55</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>57</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O Oxalato de escitalopram é um fármaco antidepressivo comercializado sobre a forma de sólido oral comprimido da classe dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina que age no cérebro, onde corrige as concentrações alteradas de determinadas substâncias que causam os sintomas da doença (SANDOZ, 2017).

Para garantir a qualidade, segurança e eficácia do medicamento no mercado durante sua validade é necessária a realização do estudo de estabilidade. A estabilidade de um medicamento ou insumo é definida como o período no qual um produto ou insumo retém as propriedades e características que possuía na hora de sua produção, dentro de limites especificados (ROCHA, 2015; FARMACOPEIA DOS ESTADOS UNIDOS, 2018, tradução nossa).

O objetivo do estudo de estabilidade do medicamento ou insumo farmacêutico é fornecer evidências sobre como a qualidade dos mesmos variará em função do tempo, sob a influência dos fatores ambientais tais como, temperatura, umidade e luz. Este estudo é importante para que sejam conhecidas as condições ótimas de armazenagem do produto farmacêutico ou do insumo, escolha da embalagem primária e para prever as interações entre fármacos e excipientes (BRASIL, 2005; WANCZINSKI; SANCHES; WOLF, 2007).

Dentre os diversos testes realizados para avaliar a estabilidade de um medicamento ou insumo, o mais discutido atualmente é o estudo de avaliação do teor de impurezas. No âmbito de produtos farmacêuticos pode-se determinar impurezas como sendo constituintes indesejados na composição do insumo ativo ou do medicamento que em quantidades expressivas podem causar a ineficácia do tratamento e até mesmo efeitos adversos diante do risco toxicológico do composto (MELO, 2012, p. 7).

Para fins de controle de qualidade todas as classes de impurezas devem ser monitoradas e mantidas sob controle nos produtos farmacêuticos. Contudo, a classe de impurezas de interesse durante o estudo de estabilidade são os chamados produtos de degradação, que são aqueles compostos que surgem ou evoluem durante a validade do insumo ou medicamento (INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF

TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE (ICH), 2006; BRASIL, 2015a).

Para monitorar os níveis dos produtos de degradação no produto farmacêutico é necessário o desenvolvimento de uma metodologia analítica indicativa de estabilidade, que se trata, neste contexto, de uma técnica desenvolvida e validada, geralmente por cromatografia, capaz de determinar qualitativamente e quantitativamente os produtos de degradação presentes nas amostras de forma precisa, exata e seletiva (BRASIL, 2015a, 2017).

Para o desenvolvimento de uma metodologia analítica indicativa de estabilidade é imprescindível a realização do estudo de degradação forçada que consiste em um estudo que permite a geração de produtos de degradação através da exposição do insumo farmacêutico ativo ou produto acabado a condições de estresse, como por exemplo, luz, temperatura, calor, umidade, hidrólise ácida, hidrólise básica e oxidação, entre outras. Este estudo permite o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade e fornece informações acerca das possíveis rotas de degradação de um determinado produto (BRASIL, 2015b).

## **1.1 Objetivos**

### **1.1.1 Objetivo geral**

Desenvolver uma metodologia analítica a fim de todos os produtos de degradação viáveis do insumo farmacêutico ativo oxalato de escitalopram, que seja eficiente para ser empregada como indicativa de estabilidade e monitorar os níveis destas impurezas ao longo de sua validade.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

- Empregar cromatografia líquida para monitorar os possíveis produtos de degradação do insumo ativo oxalato de escitalopram;

- Realizar o estudo de especificidade para avaliar a seletividade do método proposto para as impurezas possuídas na forma de padrões analíticos;
- Realizar o estudo de degradação forçada no insumo oxalato de escitalopram nos moldes exigidos pelas normativas nacionais e guias internacionais para determinar o perfil de degradação potencial do insumo.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Medicamentos

Segundo Ministério da Saúde, “medicamento é um produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico” (BRASIL, 2010, p. 5).

Os medicamentos possuem papel essencial na proteção, recuperação e manutenção da saúde, além de serem importantíssimos na melhoria da qualidade de vida da população (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS), 2011). Segundo Pezzini, Silva e Ferraz (2007), tais substâncias são empregadas como medida profilática, terapêutica ou para diagnósticos de doenças em exames, podendo possuir um, ou mais, componentes ativos que devem ser administrados através de uma das possíveis vias de administração, sendo empregada aquela que for mais recomendada para a forma farmacêutica em questão (ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2000).

Os medicamentos atualmente são divididos em classes de acordo com sua função farmacológica ou situação comercial, sendo eles, medicamentos de referência, similares, genéricos, novos, específicos, dramatizados, biológicos, antroposóficos e anti-homotóxicos (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA), 2018). Os três principais tipos de medicamento comercializados no Brasil são: medicamento genérico, similar e de referência (ANVISA, 2018). O medicamento genérico por obrigatoriedade deve ser um “medicamento similar a um produto de referência [...], geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia, segurança e qualidade [...]” (BRASIL, 2014). O medicamento similar é aquele que “[...] contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, apresenta a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, e que é equivalente ao medicamento registrado no órgão federal responsável [...]” (BRASIL, 2014). Já o medicamento referência “[...] é um produto inovador registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País, cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto à Anvisa” (BRASIL, 2012a).

### **2.1.1 Controle de qualidade de um medicamento**

No ato da compra de um medicamento, o consumidor dificilmente tem noção do longo percurso dos insumos constituintes do produto adquirido. A cadeia de fabricação na maioria das vezes começa fora do país com a aquisição dos insumos farmacêuticos, passando por diversas e delicadas etapas produtivas até se tornar o produto final exposto na prateleira. Assim sendo, qualquer erro em alguma das etapas produtivas ou mesmo no armazenamento deste medicamento pode colocar em risco a saúde do paciente (ANVISA, 2006, p. 359).

Por representarem o início da cadeia produtiva da indústria farmacêutica, os insumos estão sujeitos a rigoroso controle. Afinal, a qualidade das matérias primas usadas para fabricar medicamentos pode ser a diferença entre um produto eficaz ou não. Esse é um dos motivos pelo qual a Anvisa decidiu estreitar o olhar sobre o mercado de insumos (ANVISA, 2006, p. 359).

Por definição técnica, controle de qualidade no âmbito da indústria farmacêutica é um “conjunto de operações (programação, coordenação e execução) com o objetivo de verificar a conformidade das matérias primas, materiais de embalagem e do produto acabado, com as especificações estabelecidas” (BRASIL, 2007, p. 2). Visto o propósito de um medicamento para o paciente, a realização do controle de qualidade nas indústrias produtoras é de extrema importância para garantir a qualidade, segurança, eficácia e credibilidade do produto junto ao consumidor. Para assegurar esses padrões, as empresas produtoras necessitam cumprir as determinações impostas pelos órgãos reguladores e guias internacionais. De fato, o controle de qualidade pode ser considerado a etapa mais importante na fabricação de um medicamento (ROCHA; GALENDE, 2014).

## **2.2 Forma Farmacêutica**

Segundo Cabral e Pita (2015) os medicamentos comercializados possuem uma forma farmacêutica específica. Para se alcançar a forma farmacêutica ideal para determinado princípio ativo há um longo processo de investigação, estudo e, posteriormente, um rigoroso processo de produção. Pode-se definir uma forma farmacêutica como a junção de uma ou mais substâncias ativas e um veículo constituído

de excipientes que são submetidos às operações farmacêuticas a fim de facilitar a sua administração e alcançar o efeito terapêutico esperado de forma efetiva.

Os produtos farmacêuticos são desenhados para suprir as necessidades dos pacientes buscando uma farmacoterapia mais eficaz, segura e mais cômoda (UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, 2018). Dentre as várias formas farmacêuticas existentes, tais como géis, pomadas, aerossóis, comprimidos e injetáveis, as formas sólidas orais são mais vastamente prescritas devido às suas vantagens inerentes, das quais podem-se destacar a praticidade, menor custo de produção e aquisição e, geralmente, maior segurança na utilização (STORPIRTIS et al., 1999).

### **2.2.1 Sólidos orais comprimidos**

Segundo Troller e Schmidt (2005, p. 62) medicamentos sólidos orais comprimidos correspondem a cerca de 80% das formas farmacêuticas produzidas e representam grande parte do alto faturamento da indústria farmacêutica. Tais formulações apresentam vantagens perante as demais por serem mais precisas e exatas, de alta estabilidade, fácil administração, invioláveis, terem menor custo, serem mais compactas, leves, de fácil deglutição e ainda poderem apresentar características especiais de liberação do fármaco, como liberação prolongada.

Segundo Baracat et al. (2001, p. 20) o processo de produção de comprimidos dispõe de três métodos de fabricação, sendo eles, granulação por via úmida, granulação por via seca e compressão direta. Como a maioria dos insumos farmacêuticos ativos (IFA) não possuem, sozinhos, as propriedades de escoamento e alta compactabilidade necessárias para constituírem a forma oral sólida comprimido, existe assim, a necessidade de adição de excipientes adjuvantes, os quais favorecem as ligações fracas entre as partículas, facilitando a coesão do material e conseqüentemente a compressão.

### **2.2.2 Excipientes**

Para Balbani, Stelzer e Montovani (2006, p. 401) “excipientes, ou ingredientes inativos, são substâncias destituídas de poder terapêutico, usadas para assegurar a

estabilidade e as propriedades físico-químicas e organolépticas dos produtos farmacêuticos”.

Na grande maioria das vezes os fármacos não são administrados isoladamente. Geralmente estes são combinados com agentes não ativos denominados excipientes, os quais possuem funções de solubilizar, suspender, espessar, diluir, emulsificar, estabilizar, conservar, colorir e dar sabor característico à formulação medicamentosa. O emprego adequado destes excipientes resulta em formas farmacêuticas com a devida funcionalidade farmacológica (SILVA et al., 2008).

Excipientes em geral são conceituados como substâncias auxiliares diretamente envolvidas na composição das diversas formulações farmacêuticas. Constituintes de diferentes sistemas terapêuticos viabilizam o sucesso da forma farmacêutica final, apresentando características e propriedades diferentes daquelas pertinentes aos fármacos. Excipientes farmacêuticos constituem elementos de elevado destaque na formulação dos medicamentos, uma vez que, exercem efetivo papel na garantia de obtenção da forma farmacêutica adequada ao uso e ao efeito terapêutico desejado, regendo e influenciando de maneira significativa a cedência do princípio ativo contido no medicamento (CAVALCANTI, 2002, p. 53).

### **2.2.3 Insumo farmacêutico ativo**

Segundo Brasil (2010b, p.2) o insumo farmacêutico ativo pode ser definido como,

“qualquer substância introduzida na formulação de uma forma farmacêutica que, quando administrada a um paciente, atua como ingrediente ativo podendo exercer atividade farmacológica ou outro efeito direto no diagnóstico, cura, tratamento ou prevenção de uma doença, podendo ainda afetar a estrutura e funcionamento do organismo humano”.

O IFA concebe a porção inicial da cadeia de produção na indústria de medicamentos. Sendo alvo principal dos estudos realizados nos laboratórios destas empresas, que constitui além da avaliação inicial da qualidade do insumo, os estudos de estabilidade do mesmo (BRASIL, 2016b).

#### **2.2.3.1 Impurezas**

Impurezas são constituintes indesejados na composição do insumo ativo ou do medicamento que, em quantidades expressivas podem, causar a ineficácia do tratamento

e até mesmo efeitos adversos diante do risco toxicológico do composto (MELO, 2012, p. 7).

No âmbito dos produtos farmacêuticos, uma impureza pode ser definida como qualquer componente presente no insumo ativo ou na formulação que não seja o próprio insumo ativo ou os excipientes constituintes da formulação (BRASIL, 2015b, p. 2). Neste contexto as impurezas podem ser classificadas em três grupos, as impurezas orgânicas e inorgânicas e os solventes residuais. Especificamente as impurezas orgânicas podem ser mais uma vez segregadas em produtos de degradação que são aquelas impurezas formadas ao longo da vida de prateleira do insumo farmacêutico puro ou em formulações resultantes de alterações químicas indesejadas, e em impurezas de síntese, que são aquelas oriundas da rota de síntese ou obtenção do insumo ativo ou medicamento.

Essas impurezas podem ser matérias de partida, moléculas precursoras na rota sintética do insumo ativo, os produtos de reação, que são produtos secundários formados a partir das reações químicas ou processos de purificação empregados na fabricação do insumo ativo, ou ainda intermediários, que são formações anteriores a obtenção do produto final requerido e, por último, os produtos de degradação (ICH, 2006).

Segundo guia Q3B (ICH, 2006), para fins de controle de qualidade todas as classes de impurezas devem ser monitoradas e mantidas sob controle nos produtos farmacêuticos. Todavia, entre as classes de impurezas citadas somente os produtos de degradação podem evoluir em quantidade durante a vida de prateleira do medicamento ou insumo ativo. Esta classe de impurezas merece maior atenção durante os estudos de estabilidade.

#### **2.2.4 A Integridade de um medicamento**

Visto o risco toxicológico que um produto de degradação pode levar ao paciente final, os teores individuais destes componentes nas drogas farmacêuticas devem ser constantemente monitorados. Em face disso, a realização do controle de qualidade e dos estudos de estabilidade nas indústrias farmacêuticas constituem importância vital para assegurar a qualidade, segurança, eficácia e credibilidade dos seus medicamentos junto ao mercado consumidor. A fim de garantir esses requisitos durante a fabricação de seus

produtos, as empresas fabricantes precisam cumprir as determinações impostas pela ANVISA e pelos guias internacionais do setor (ROCHA; GALENDE, 2014).

Segundo o Ministério da Saúde (BRASIL, 2015b, p. 2) os produtos de degradação devem receber tratamentos específicos de acordo com o teor individual destes durante o estudo de estabilidade. Para tanto, são estabelecidos três limites de controle para tais impurezas: os limites de notificação, identificação e qualificação, os quais são estabelecidos em base a posologia máxima diária para o insumo ativo (QUADRO 1). O limite de notificação é o valor base. Caso o teor de determinado composto de degradação obtido no estudo de estabilidade do insumo ativo se apresentar superior a ele, o mesmo deverá ser reportado como composto desconhecido nos laudos de qualidade e liberação. Enquanto o limite de identificação trata-se do valor base acima do qual o composto deverá ter sua estrutura química identificada e avaliada quanto a presença de possíveis riscos estruturais. E o limite de qualificação que é o valor acima do qual o produto de degradação deve ter seu risco toxicológico avaliado.

QUADRO 1 - Limites de notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação

	Dose Máxima Diária	Limites
Limites de Notificação	≤1g	0,1%
	>1g	0,05%
Limites de Identificação	<1mg	1,0% ou 5µg Administração total diária (ATD), o que for menor
	1mg-10mg	0,5% ou 20µg ATD, o que for menor
	>10mg-2g	0,2% ou 2mg ATD, o que for menor
	> 2g	0,10%
Limites de Qualificação	<10 mg	1,0% ou 50µg ATD, o que for menor
	10 mg-100mg	0,5% ou 200µg ATD, o que for menor
	>100 mg - 2g	0,2% ou 3mg ATD, o que for menor
	>2g	0,15%

Fonte: Ministério da Saúde (2015b, p. 49).

Nos dois casos mais extremos os produtos de degradação precisam ser identificados ou mesmo qualificados. Para fins de identificação de um produto de degradação, devem ser empregadas técnicas conclusivas teóricas e experimentais. Após a identificação do composto sua estrutura deverá ser avaliada quanto à presença de possíveis estruturas químicas características que conduzam à classificação de produto potencialmente tóxico. Na existência, este composto deverá ter seu perfil de segurança estabelecido através da avaliação da segurança biológica (BRASIL, 2016b).

Diante da presença de produtos de degradação em quantidade significativa no fármaco ou no medicamento é necessário realizar a sua qualificação. Prevenir ou minimizar a formação de produtos de degradação significativos em fármacos ou formas farmacêuticas pode ser, também, uma estratégia mais econômica que qualificar os produtos formados. A quantificação de um produto de degradação pode ser realizada por meio de dados de literatura científica ou por meio de dados experimentais (estudos toxicológicos) que confirmem os níveis seguros das mesmas. No entanto, a qualificação de um produto de degradação normalmente é onerosa, pois envolve na maioria das vezes a necessidade da caracterização, síntese da impureza de degradação e condução de ensaios toxicológicos. Neste sentido, os esforços devem ser concentrados em minimizar e até mesmo eliminar as impurezas de degradação ou buscar a qualificação mediante dados literários (MELO, 2012, p. 7).

### 2.3 Estudos de estabilidade e estabilidade farmacêutica

A estabilidade farmacêutica é definida, em aspectos gerais, como o período em que o produto farmacêutico, matéria prima ou medicamento, mantém suas características dentro dos limites especificados e em grau de importância à época de sua fabricação ou recebimento, sem que ocorram alterações químicas que comprometam a eficácia, segurança e confiabilidade do medicamento (VADAS 2000 apud TABORIANSKI, 2003, p. 36)<sup>1</sup>. “Tais alterações podem ser rápidas ou lentas, podendo refletir ou não nas características organolépticas. Estas alterações podem levar à perda parcial ou total da atividade ou à formação de produtos cuja toxicidade é elevada” (CARSTENSEN, 1990, p. 5). Segundo Wanczinski, Sanches e Wolf (2007, p. 57), entre os principais fatores que podem alterar a estabilidade de um medicamento ou formulação citam-se a temperatura,

---

<sup>1</sup> VADAS, E. B. **Stability of pharmaceutical products**. Easton Pennsylvania: Mack Publishing Company, 2000. p. 986-994.

a exposição à luminosidade, ao ar atmosférico, à umidade, ao tipo de embalagem primária empregada e até mesmo aspectos relacionados à inércia química da molécula, entre outros. Para Vadas (2000 apud TABORIANSKI, 2003, p. 36, tradução do autor)<sup>2</sup> vários fatores afetam a estabilidade de um produto farmacêutico, incluindo a estabilidade de matérias-primas ativas, o potencial de interação entre matéria-prima ativa e inativa, o processo de fabricação, a forma farmacêutica, a embalagem e condições ambientais encontradas durante o transporte, a estocagem, o manuseio, bem como a duração do tempo entre a produção e distribuição do medicamento.

A previsão da estabilidade de uma formulação ou insumo ativo e a necessidade de se conhecer seu comportamento nas condições ambientais normais constitui uma das principais preocupações dos laboratórios farmacêuticos, pois somente por este caminho pode-se avaliar assertivamente a validade do medicamento, ou seja, o período pelo qual determinado produto farmacêutico mantém suas características físicas e químicas nos limites especificados, dentro das propriedades que possuía no momento da sua fabricação (THOMPSON, 2006). Para Carvalho et al. (2005, p. 23) “a monitorização da estabilidade de medicamentos é um dos métodos mais eficazes para avaliação, previsão e prevenção de problemas relacionados à qualidade do produto durante seu tempo de validade”. Para Ansel, Popovich e Allen (2000 apud WANCZINSKI; SANCHES; WOLF, 2007, p. 61)<sup>3</sup> a estabilidade é importante para que sejam conhecidas as condições ótimas de armazenagem do produto farmacêutico ou do insumo, escolha da embalagem primária e para prever as interações entre fármacos e excipientes.

A instabilidade dos medicamentos pode provocar perda no teor da substância ativa, perda de formato da forma farmacêutica e formação de produtos tóxicos, sendo que estas modificações podem ser mais rápidas ou lentas como também macroscopicamente visíveis ou não. Elas podem comprometer a saúde do paciente ou em caso de alterações macroscópicas simplesmente desmotivar a administração pela apresentação de alterações de cor, forma ou sabor (WANCZINSKI; SANCHES; WOLF, 2007, p. 57).

---

<sup>2</sup> VADAS, E. B. **Stability of pharmaceutical products**. Easton Pennsylvania: Mack Publishing Company, 2000. p. 986-994.

<sup>3</sup> ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.C.; ALLEN, L.J.JR. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 6. ed. São Paulo: Premier, 2000.

Os estudos de estabilidade devem simular as condições reais as quais o medicamento ou insumo ativo serão expostos durante sua armazenagem. Para tanto, esses estudos devem ser realizados em câmaras climáticas qualificadas de acordo com as normas internacionais, proporcionando o controle adequado de temperatura e umidade em seu interior. Elas devem ser projetadas de forma a serem aplicadas continuamente a não sofrerem alterações que possam causar variação na tendência de modificação do produto em teste (NUNES et al, 2007, p. 137).

Para a realização dos estudos de estabilidade, devido à grande variabilidade climática do mundo, o mesmo foi subdividido em zonas com diferentes especificações de temperatura e umidade para possibilitar a comercialização dos produtos em outras zonas climáticas (TAB. 1). Definiu-se zona climática como espaço ou zona geograficamente delimitada de acordo com os critérios de temperatura e umidade aplicáveis quanto a realização de estudo de estabilidade (CARVALHO et al., 2005; BRASIL, 2005). Diante destas colocações o planeta foi dividido em quatro zonas climáticas sendo elas a zona I, onde o clima é temperado, a zona II de clima subtropical, com possibilidade de alta umidade, zona III quente e seca e zona IV quente e úmida (SOUTHERN AFRICAN DEVELOPMENT COMMUNITY (SADC), p. 4, 2004, tradução nossa). De acordo com o ministério da saúde (2011) o Brasil situa-se na zona climática IV-B (quente/muito úmido).

Tabela 1 - Zonas climáticas para estudos de estabilidade de produtos farmacêuticos

Zona climática	Definição	Temperatura cinética média °C	Umidade relativa (%)
I	Clima temperado	21	45
II	Clima subtropical e mediterrâneo	25	60
III	Clima quente e seco	30	35
IV-A	Clima quente e úmido	30	65
IV-B	Clima quente e muito úmido	30	75

Fonte: OMS, Organização Mundial da Saúde 2006.

### 2.3.1 Classes dos estudos de estabilidade

De acordo com Ministério da Saúde (BRASIL, 2005, p. 6), os estudos de estabilidade são divididos em Acelerado, Longa Duração e Acompanhamento, sendo necessário realizar o Estudo de Degradação Forçado para fins de determinação da capacidade primária do método analítico empregado e para determinação do perfil de degradação potencial. Na rotina dos laboratórios farmacêuticos cada estudo possui sua finalidade específica (QUADRO 2).

O Estudo de Estabilidade Acelerado é desenhado para aumentar a velocidade de degradação química e/ou alterações físicas de um medicamento ou insumo farmacêutico em condições abruptas de armazenamento. Os resultados obtidos, juntamente com aqueles adquiridos nos estudos de estabilidade de longa duração, são empregados para avaliar implicações químicas e físicas delongadas em condições não aceleradas e para explicar o impacto de curtas exposições a condições diferentes daquelas preconizadas na bula do produto, situações estas que podem ocorrer, principalmente, durante o transporte do medicamento ou insumo (SILVA, et al. 2009, p. 135).

O Estudo de Estabilidade de Longa Duração é desenhado para avaliar as características físicas, químicas, biológicas e microbiológicas de um produto farmacêutico ou insumo farmacêutico no decorrer e, facultativamente, depois do prazo de validade esperado para o produto. Os resultados são utilizados para estabelecer ou sancionar o prazo de validade do produto e recomendar as condições de armazenamento e embalagem (SILVA, et al. 2009, p. 135).

O Estudo de Estabilidade de Acompanhamento é um estudo realizado para averiguar se o produto farmacêutico conserva suas características físicas, químicas, biológicas, e microbiológicas conforme os resultados obtidos nos estudos de estabilidade de longa duração, após alterações de materiais de embalagem primária, instrumentos de produção ou tamanho de lote produzido (CARSTENSEN, 1990).

QUADRO 2 - Resumo dos objetivos do estudo de estabilidade por classe

<b>Tipos de Estudos</b>	<b>Principais Objetivos</b>	<b>Principais Finalidades</b>	<b>Condição de Armazenamento</b>
Acelerado	Determinar prazo de validade provisório e condições de armazenamento	Desenvolvimento do produto; documentação de registro	Forçada
Longa Duração	Comprovar o prazo de validade e as condições de armazenamento estabelecida pelo estudo acelerado	Documentação de registro	Ambiente
Acompanhamento	Verificar se não foi introduzida nenhuma mudança na formulação ou no processo de fabricação que possa afetar adversamente a estabilidade do produto	Garantia de Qualidade / Controle de qualidade	Ambiente

Fonte: LEITE, E. G., 2006.

A frequência e os períodos dos testes de estabilidade são relacionados de acordo com a condição do estudo, sendo zero, três e seis meses para a condição de estudo acelerado; zero, seis, nove, doze, dezoito, vinte e quatro meses e no prazo de validade do medicamento para a condição de estudo de longa duração e acompanhamento.

### **2.3.2 Estudo de degradação forçada**

O Estudo de Degradação Forçada é destinado a elucidar a estabilidade de um fármaco sendo precursor do perfil de degradação potencial do fármaco e faz parte da estratégia de desenvolvimentos de formulações farmacêuticas, sendo, geralmente, realizado em condições mais abruptas que aquelas empregadas no estudo de estabilidade acelerado (SINGH; BAKSHI, 2000 apud ROLIM, 2010, p. 33, tradução do

autor)<sup>4</sup>. Segundo Reynolds et al. (2002 apud SILVA et. al, 2009, tradução do autor)<sup>5</sup> um dos principais objetivos desse teste é demonstrar a seletividade ao se desenvolver uma metodologia analítica indicativa de estabilidade com o intuito de verificar e/ou quantificar os produtos de degradação oriundos da decomposição química do fármaco. Estes também fornecem informações sobre as rotas de degradação e dos produtos formados, que poderiam ser produzidos durante o período de armazenamento.

Para Ministério da Saúde (BRASIL, 2015b), o estudo de degradação forçada tem como objetivo a obtenção do perfil de degradação potencial do insumo farmacêutico ativo e a detecção das condições as quais o fármaco ou medicamento é individualmente sensível, a fim de alertar o sistema de garantia da qualidade da empresa quanto aos cuidados particulares que necessitam ser tomados na fase de desenvolvimento, fabricação, manipulação e conservação do medicamento, além de ser uma ferramenta indispensável para o desenvolvimento de uma metodologia analítica indicativa de estabilidade para o fármaco.

Para fins de execução do estudo de degradação forçada e obtenção das rotas degradativas, o fármaco ou formulação deve ser imposto as seguintes vias de degradação: aquecimento, umidade, solução ácida, solução básica, solução oxidante, exposição fotolítica e solução contendo íons metálicos (BRASIL, 2015b).

Segundo a OMS (2005, tradução nossa) as rotas degradativas dos insumos farmacêuticos em condições ambientais normais geralmente acontecem por reações de hidrólise, fotólise e termólise. Tipicamente para acelerar estas reações o IFA é imposto a condições de estresse controladas conforme demonstra a TAB. 2, por um período não superior a dez dias, onde o objetivo é decompor o insumo ativo a um teor entre 70% a 90% do valor inicial e assim verificar os possíveis produtos de degradação que poderão ser formados durante a validade do fármaco nas condições ambientais de armazenamento.

---

<sup>4</sup> SINGH, S.; BAKSHI, M. Guidance on conduct of stress tests to determine inherent stability of drugs. **Pharm Technologies**. v. 24, p. 1-14, 2000.

<sup>5</sup> REYNOLDS D. W. et al. Available guidance and best practices for conducting forced degradation studies. **Pharm Technologies**. v. 26, n. 2, p. 48-56, 2002.

Tabela 2 - Condições típicas de exposição dos insumos farmacêuticos

Via degradativa	Condições	Concentração do insumo	Exposição
Termolítica	60°C	1:1 com o diluente	1-10 dias
Umidade	75% de umidade ou mais	Estado sólido	1-10 dias
Hidrólise ácida	Ácido clorídrico 0,1 mol L <sup>-1</sup>	2:1 com o ácido clorídrico	1-10 dias
Hidrólise básica	Hidróxido de sódio 0,1 mol L <sup>-1</sup>	2:1 com o hidróxido de sódio	1-10 dias
Oxidação	Peróxido de hidrogênio 3%	1:1 com o peróxido de hidrogênio	1-3 horas
Fotólise	Luz de lâmpadas de mercúrio, xenônio ou ultravioleta	1:1 com o diluente	1-10 dias
Catálise metálica	0,05 mol L <sup>-1</sup> de Fe <sup>2+</sup> ou Cu <sup>2+</sup>	1:1 com a solução de metais	1-10 dias

Fonte: OMS, 2005, tradução nossa.

### 2.3.2.1.1 Termólise

Para Rao e Kiram (2010, p. 301 apud MELO 2012, p. 21, tradução do autor)<sup>6</sup>, as reações de termólise são aquelas que ocorrem devido à exposição do insumo ativo ou formulação ao calor ou elevadas temperaturas. Assim sendo, quaisquer reações ou mecanismo de degradação que é desencadeado por temperaturas elevadas pode ser considerado um mecanismo de degradação termolítica. Algumas reações de hidrólise, isomerização, descarboxilação, polimerização ou rearranjos podem ser descritos por esta via de degradação, que na grande maioria das vezes pode ser descrito pelo princípio de Arrhenius (MELO 2012, p. 21).

<sup>6</sup> RAO, N.R.; KIRAM, S. S. M. Pharmaceutical Impurities: An overview. **Indian JPharm Educ Res**, [S.l.], 44, 3, 301-310, 2010.

Segundo o guia de estudo de estabilidade (ICH, 2003, tradução nossa), o estudo de degradação pela via termolítica deve ser conduzido em cerca de 50°C a 60°C. O objetivo de se empregar tais temperaturas não é suficientemente claro, mas pode estar relacionado à importância de se entender se um mecanismo degradativo pode ou não modificar a estabilidade de determinado insumo ativo ou formulação (BAERSCHI; JANSEN; ALSANTE, p. 17, 2011, tradução nossa).

### **2.3.2.1.2 Hidrólises**

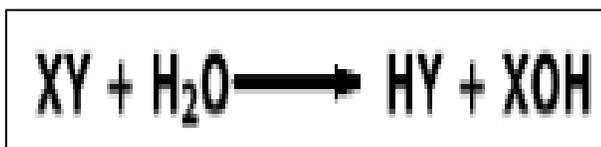
Segundo Zhou, Porter e Zhang (2016, p. 129, tradução nossa) o mecanismo degradativo por hidrólise é, sem dúvida, o mecanismo de degradação mais comum, estando a substância em estado sólido ou estado líquido. A maioria das moléculas, ainda segundo eles, possuem grupos funcionais de fraca interação, como por exemplo ácidos carboxílicos e aminas que, quando na presença de água, principalmente se estimuladas por um aumento na concentração de hidrogênios iônicos ou hidroxilas, se tornam mais suscetíveis às reações de hidrólise. Desta forma o pH do meio reacional se torna um catalisador deste mecanismo reacional.

Para Baerschi, Jansen e Alsante (2011, p. 21, tradução nossa), reações de hidrólise também podem ocorrer em condições neutras, também chamada de hidrólise neutra ou exposição à umidade e catalisadas por metais de transição. Experimentar o fármaco sobre as condições ácida, básica e neutra é especialmente importante, pois, grupos funcionais podem existir com diferentes cargas iônicas em diferentes condições aquosas. No entanto, reações de hidrólise catalisadas podem, ainda segundo Baerschi, Jansen e Alsante (2011, p. 22, tradução nossa), aumentar grandemente o risco de indução a mecanismos de degradação não factíveis do ponto de vista da estabilidade do fármaco, ou seja, poderá haver a formação de compostos impossíveis de serem verificados na vida útil do produto, e este não é o objetivo de um estudo de degradação forçada.

De acordo com Hijazin, Simões e Silveira (2010, p. 89), pode-se, de forma simplificada, definir uma reação de hidrólise como a transferência do átomo de hidrogênio

da água para um dos produtos da clivagem e a hidroxila para o outro produto, segundo demonstra a FIG. 1.

Figura 1 - Esquema genérico de uma reação de hidrólise



Fonte: HIJAZIN, C. A. H.; SIMÕES, A. T.; SILVEIRA, D. R., 2010, p. 2.

### 2.3.2.1.3 Oxidação

A degradação oxidativa é um dos principais causadores de instabilidade nos medicamentos. Os fármacos estudados mais suscetíveis a este mecanismo são os esteroides, as vitaminas, os óleos e as gorduras (FLORENCE; ATTWOOD, 2003, p. 711 apud SILVA et al. 2009, p. 132)<sup>7</sup>

Segundo Rocha (2012, p. 21) “a oxidação envolve a remoção de um átomo eletropositivo, radical ou elétron, ou a adição de um átomo eletronegativo ou radical”. Ainda segundo Rocha o peróxido de hidrogênio é o reagente mais comumente utilizado para estudos de degradação forçada preditivos por ser capaz de produzir as condições ideias de estresse equivalentes aquelas as quais a formulação ou insumo será exposta ao longo de sua vida útil.

Visto a alta possibilidade de incidência de reações de oxidação em fármacos e medicamentos propiciadas pela presença de umidade e oxigênio atmosférico, estratégias devem ser selecionadas para aumentar a estabilidade dos produtos farmacêuticos, como acondicionamento em ambientes anaeróbios, uso de antioxidantes na formulação ou embalagem e procedimentos como a remoção de metais das embalagens (GIL et al., 2005 apud WANCZINSKI; SANCHES; WOLF, 2007, p. 63)<sup>8</sup>.

<sup>7</sup> FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. Princípios físico-químicos em farmácia. 3 ed. São Paulo: Edusp; 2003. p. 711.

<sup>8</sup> GIL, E. S. et al. Controle físico: Químico de Qualidade de Medicamentos. 1. ed. Campo Grande: Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal - Uniderp, 2005.

#### 2.3.2.1.4 Fotólise

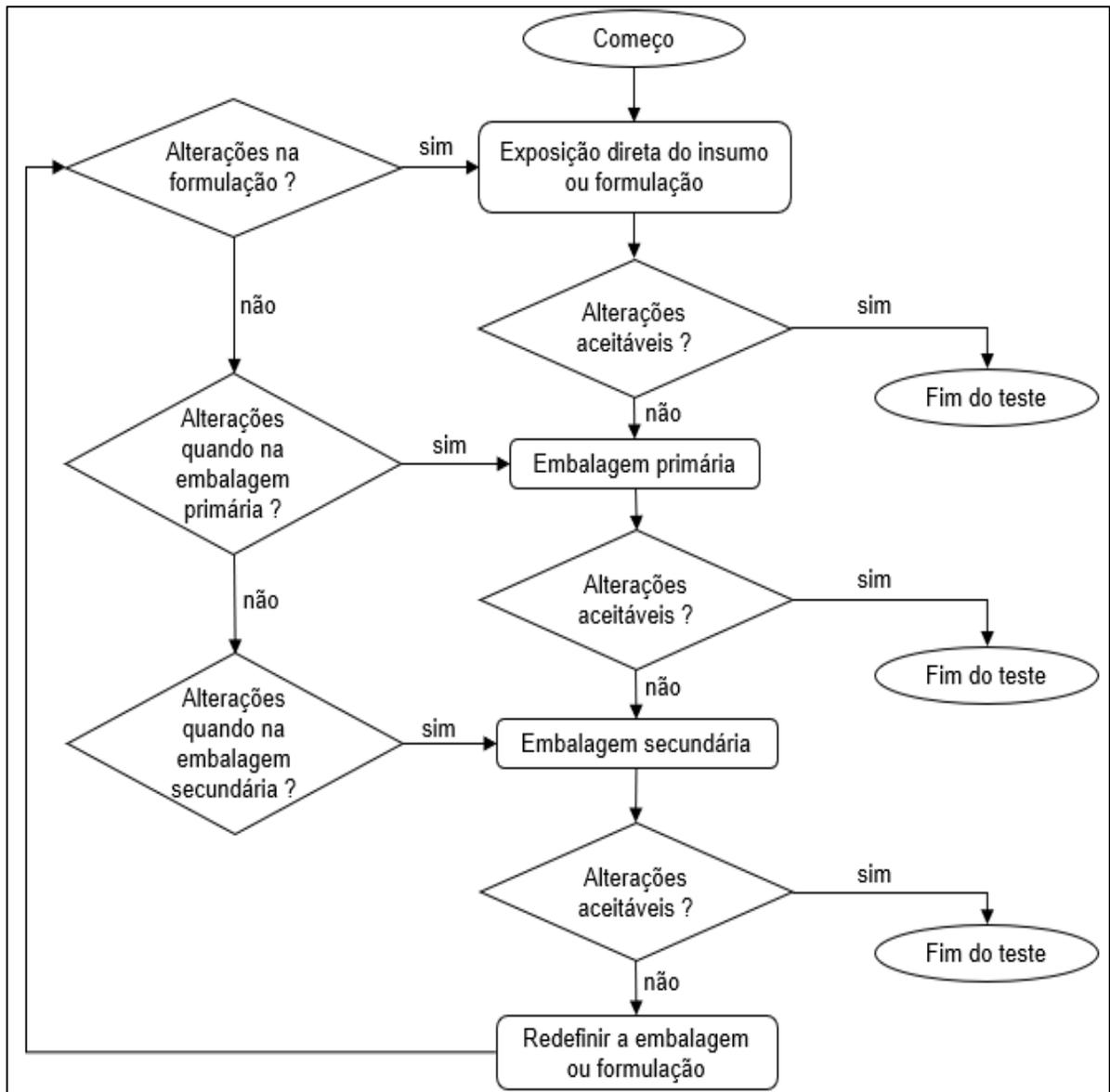
Segundo Silva et al. (2009, p. 132), “o estudo de fotoestabilidade é atualmente uma importante ferramenta para a indicação de estabilidade de fármacos e formas farmacêuticas dentro da indústria”.

A fotólise é a degradação resultante da exposição do medicamento ou insumo à radiação luminosa ultravioleta ou visível numa faixa de comprimento de onda de aproximadamente 300 nm a 800 nm. Exposição à radiação de comprimento inferior a 300 nm não é viável visto que os produtos farmacêuticos não têm contato com tal energia em sua vida útil (BAERTSCHI; JANSEN; ALSANTE, 2011, p. 27, tradução nossa). Por ser muito energética a radiação ultravioleta pode propiciar a clivagem de muitas ligações químicas, causando a degradação da molécula do fármaco (SILVA et al. 2009, p. 132)

O objetivo da exposição à radiação luminosa é predizer em escala laboratorial os possíveis produtos de degradação formados a partir deste mecanismo de degradação e assim garantir, de forma apropriada, que tal via degradativa não imponha alterações inaceitáveis ao medicamento ou insumo (ICH, 1996). Caso seja constatado sensibilidade, medidas de controle devem ser adotadas para garantir a integridade da formulação ao longo de sua vida útil, como o uso de recipientes de vidro colorido, estocagem no escuro ou emprego de revestimento em caso de medicamentos sólidos orais (ICH, 1996, tradução nossa; SILVA et al. 2009, p. 133).

Como demonstrado no Fluxograma 1, o estudo de fotoestabilidade deve ser conduzido a fim de determinar as condições ótimas de armazenamento do medicamento. Assim sendo, a ordem de exposição deve ser tal que permita verificar a condição suficiente para garantir a integridade do produto, iniciando-se da exposição direta do insumo ou formulação, seguido das embalagens primária e secundária ou mesmo reformulação do medicamento caso nenhuma das barreiras impostas seja capaz de manter a estabilidade do mesmo. Também pode ser adotado como mapa de decisões para selecionar a melhor estratégia para prevenir a decomposição do insumo ativo ou formulação em qualquer uma das possíveis vias degradativas as quais ocorra risco de instabilidade (ICH, 1996, tradução nossa).

Fluxograma 1- Arvore de decisões para a sensibilidade do medicamento ou insumo à radiação luminosa



Fonte: ICH, 1996

## 2.4 Perfil de degradação

Segundo ICH (2006), o perfil de degradação é o conjunto de produtos de degradação observados no insumo farmacêutico ativo ou no medicamento quando exposto às condições de degradação forçada, podendo ser dividido em perfil de degradação potencial, acelerado ou real.

Para Ministério da Saúde (BRASIL, 2015a), o perfil de degradação de interesse sanitário é aquele gerado nas condições as quais o medicamento ou insumo ativo é exposto ao longo de sua validade, condições essas que são simuladas pelo estudo de estabilidade. Portanto, o perfil de degradação mais relevante é aquele obtido após a exposição do medicamento ou insumo às condições ambientais impostas pela estabilidade de longa duração, pelo tempo equivalente à sua vida útil. Para fins técnicos o perfil de degradação produzido ao longo da estabilidade do produto ou insumo recebe o nome de perfil de degradação real.

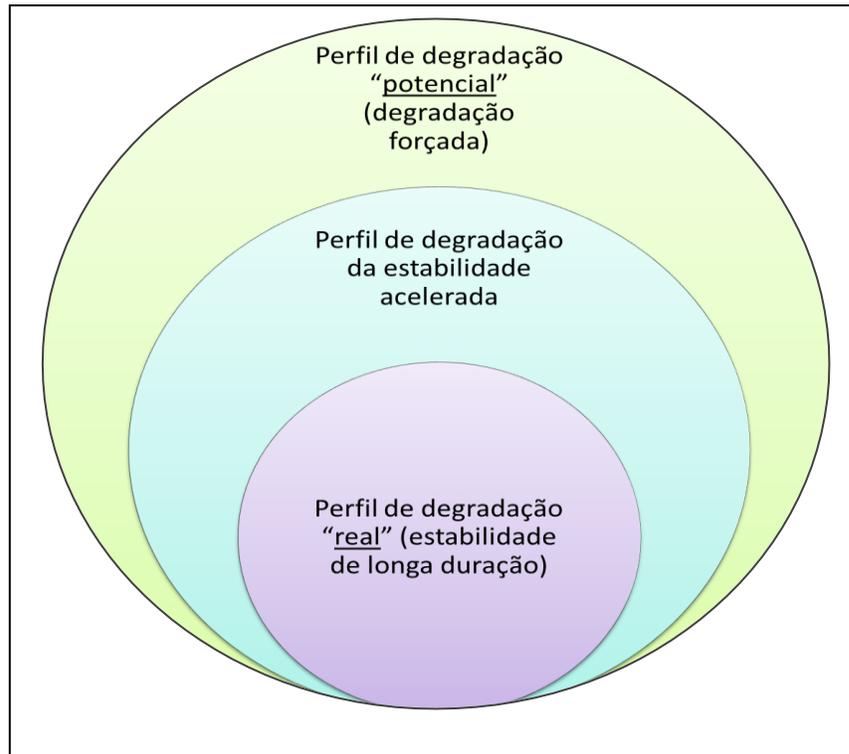
Ainda de acordo com Ministério da Saúde (BRASIL, 2015a), O estudo de estabilidade acelerado, tem caráter preditivo, e seu perfil de degradação é relevante em situações especiais, como nos casos de concessão de prazo de validade provisório.

Visto a necessidade de se desenvolver metodologias capazes de detectar e quantificar os produtos de degradação compreendidos dentro dos perfis de degradação acelerado e real, se torna necessária a realização do estudo de degradação forçada (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), 2000).

O estudo de degradação causa, deliberadamente, a degradação em maior escala do insumo ativo ou medicamento, expondo-o às condições mais extremas que os estudos de estabilidade. A condução do estudo de degradação é, portanto, uma ferramenta para o desenvolvimento de uma metodologia indicativa de estabilidade, porém visto que a formação dos produtos de degradação dependerá das diversas condições as quais o insumo ou medicamento será exposto, pode ser possível a formação de produtos de degradação que não estarão presentes no estudo de estabilidade. Portanto o perfil obtido para a condição de degradação forçada será um perfil de degradação potencial (BRASIL, 2015a).

Todavia, como demonstrado na FIG. 2, cabe ressaltar que o perfil de degradação potencial poderá ser diferente do perfil real e do perfil acelerado, mas do ponto de vista qualitativo o perfil real está contido dentro do perfil potencial, assim como o perfil acelerado (CARSTENSEN, 1990).

Figura 2 - Relação entre os perfis de degradação para um IFA



Fonte: BRASIL, 2015a, p. 6.

## 2.5 Desenvolvimento de um método analítico

Visto que existem poucas monografias em farmacopeias ou outros compêndios aceitos pelos órgãos regulamentadores brasileiros que incluem metodologias para o monitoramento da formação de produtos de degradação e que as reações que originam tais compostos são particulares de cada insumo ativo, formulação ou condição de fabricação e armazenamento, faz-se necessário, muitas vezes, o desenvolvimento das metodologias eficientes para indicar a estabilidade dos produtos farmacêuticos ao longo de sua vida útil (CARVALHO et al., 2005).

Segundo Ministério da Saúde (BRASIL, 2015a, p. 9), métodos indicativos de estabilidade são "métodos analíticos quantitativos indicados para análise de amostras de estabilidade, validados, capazes de detectar, ao longo do tempo, mudanças nas propriedades físicas, químicas ou microbiológicas de uma substância. Métodos específicos capazes de mensurar com exatidão o teor do insumo farmacêutico ativo, produtos de degradação e outros componentes de interesse, sem interferência. A classificação de um método como indicativo de estabilidade também depende da finalidade à qual ele é proposto. Um método pode ser indicativo de estabilidade somente para teor, sendo capaz de quantificar

um IFA em meio aos seus produtos de degradação sem quantificar todos os produtos de degradação relevantes; ou somente para produtos de degradação, sendo capaz de quantificar todos os produtos de degradação relevantes, mas não o IFA; ou ainda indicativo de estabilidade para ambos os aspectos, ou seja, para teor e para produtos de degradação”.

### **2.5.1 Seletividade**

Uma amostra, de maneira geral, consiste dos analitos a serem avaliados, da matriz, e de outros componentes que não serão medidos, mas que podem representar interferência nas medições. Neste contexto um método seletivo é aquele capaz de distinguir a resposta de um analito da resposta dos demais analitos, na presença dos constituintes da amostra (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL (INMETRO), 2007, p. 6).

Segundo Ministério da Saúde (BRASIL, 2017, p. 7) a seletividade do método analítico deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de identificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença dos componentes da amostra, como placebo, impurezas e insumos ativos.

### **2.5.2 Cromatografia líquida de alta eficiência**

O sistema de cromatografia líquida de alta performance é a mais poderosa e de mais ampla aplicação entre as técnicas cromatográficas. Com ela é possível se alcançar facilmente a separação de compostos que seriam dificilmente separados por outras técnicas (LINDSAY, 1987, p. 1-7).

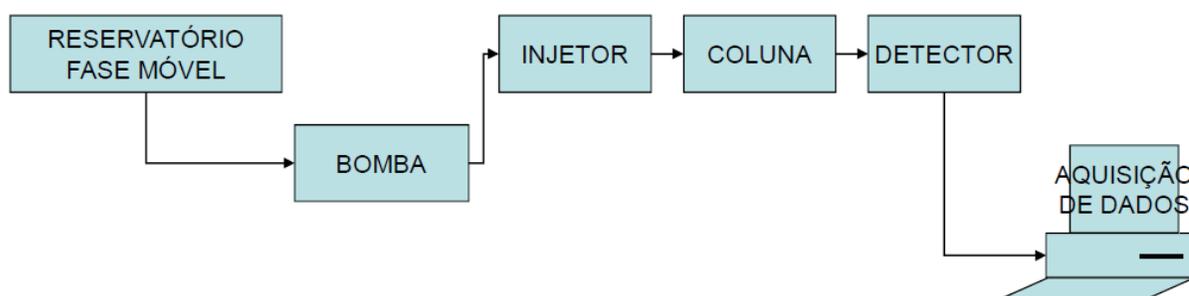
A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é uma técnica de separação baseada na distribuição dos constituintes de uma mistura entre duas fases não miscíveis. Este sistema é composto de uma fase móvel, líquida e uma fase estacionária sólida contida em uma coluna cilíndrica, denominada coluna cromatográfica (HAGE; CARR, 2012, p. 540). Em CLAE as separações ocorrem através da interação entre o componente de interesse, a fase móvel e a fase estacionária, sendo que o componente que possuir maior afinidade pelo eluente possuirá menor tempo de residência no interior da coluna. As separações ocorrem, de acordo com a fase estacionária empregada, por partição,

adsorção, troca iônica, exclusão de tamanho ou interações estereoquímicas. Amostras não voláteis e termolábeis são preferencialmente analisadas por CLAE (FARMACOPEIA DOS ESTADOS UNIDOS, 2018, tradução nossa).

### 2.5.2.1 Funcionamento do cromatografo líquido

O instrumento cromatográfico CLAE, como ilustrado na FIG. 3, consiste de um sistema de bombeamento, um injetor, uma coluna cromatográfica com controlador de temperatura, um detector e um software de aquisição de dados. O sistema de bombas é responsável por conduzir a fase móvel, também conhecida como eluente, através do restante do sistema, carregando consigo a mistura de componentes contidos na amostra. A amostra é coletada pelo amostrador e então introduzida na fase móvel, sendo em seguida conduzida até a coluna cromatográfica que proverá a separação dos componentes. Após separados a última etapa é a detecção, onde os compostos, já separados, são mensurados pela técnica de quantificação ou qualificação requerida (CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA (CRQ) 4ª REGIÃO, 2010).

Figura 3 – Diagrama genérico de um instrumento de CLAE



Fonte: CRQ 4º REGIÃO, 2010.

O sistema de bombeamento, geralmente a primeira fase de módulos do instrumento cromatográfico, é responsável por conduzir a fase móvel pelo restante do sistema de forma constante e precisa sob altas pressões. Neste módulo há a presença de armadilhas para evitar a formação de bolhas de gases no sistema, o que poderia causar flutuações indesejadas de pressão (FARMACOPEIA BRASILEIRA, p. 109).

O amostrador, também conhecido como injetor é responsável pela coleta da amostra desejada e posterior introdução da mesma na fase móvel que irá conduzi-la para a etapa seguinte, a coluna cromatográfica. Em situações especiais este módulo pode possuir controle integrado de temperatura para evitar a degradação indesejada da amostra em casos de reações cinéticas (FARMACOPEIA EUROPEIA, p. 110).

A coluna cromatográfica é o coração do sistema cromatográfico. O sucesso da aplicação cromatográfica depende fundamentalmente da escolha da coluna cromatográfica. Ela é responsável pela separação dos componentes presentes na amostra proveniente do injetor (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000). As colunas cromatográficas são construídas de um tubo de material inerte, geralmente aço inoxidável, preenchido com material poroso onde são efetivadas, ou não, as ligações com grupos funcionais responsáveis por produzir as interações físicas que causam a retenção gradativa dos componentes da amostra (COLINS; BRAGA; BONATO, 2006). À junção do grupamento funcional dá-se o nome de fase estacionária. Os grupos funcionais são os principais responsáveis por conferir à polaridade da coluna cromatográfica, sendo os mais comuns os grupamentos octil, octadecil, fenil, ciaopropil e nitrila (FARMACOPEIA BRASILEIRA, p. 110).

Existe um grande número de tipos de detectores disponíveis para as mais diferentes aplicações do sistema de cromatografia líquida. O detector de CLAE mais empregado é o de absorção no espectro de onda luminosa. Este tipo de detector mede a quantidade de luz visível ou ultravioleta absorvida durante a passagem do analito por um caminho ótico percorrido pelo feixe da radiação. A principal característica desses detectores é a alta sensibilidade (MENDHAM et al., 2017). A radiação absorvida pelo analito propicia uma queda na quantidade de energia que alcança os diodos. Essa queda é lida como um sinal elétrico de corrente ou voltagem que é amplificada e lida pelo software do instrumento como o sinal cromatográfico (ROYAL SOCIETY OF CHEMISTRY, 2018)

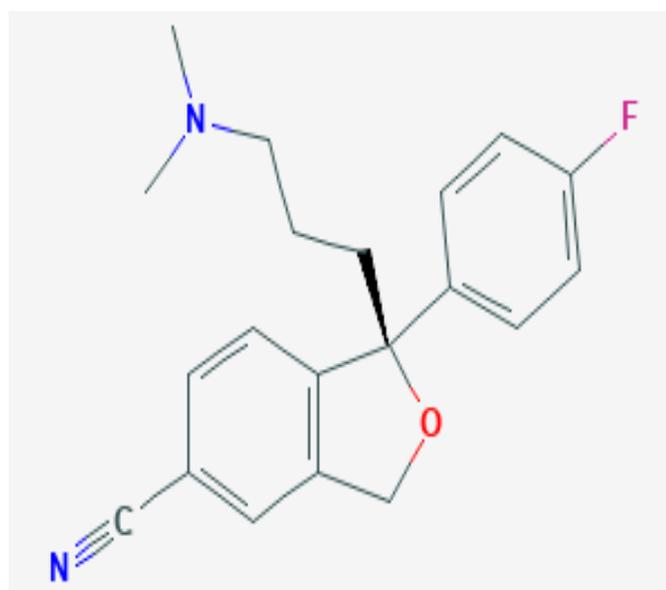
Todo o sistema cromatográfico é controlado por um software digital, que além de exercer as funções típicas de alteração dos parâmetros operacionais do instrumento, como fluxo da fase móvel, temperatura da coluna, volume de aspiração da amostra, faixa de detecção, entre outros, ainda é responsável por realizar as integrações e

processamentos dos dados coletados e em seguida armazená-los para avaliações posteriores (FARMACOPEIA BRASILEIRA, p. 109).

## 2.6 Escitalopram

O escitalopram (FIG. 4) é um fármaco antidepressivo da classe dos inibidores seletivos da recaptação de serotonina, que age no cérebro, onde corrige as concentrações inadequadas de determinadas substâncias denominadas neurotransmissores, em especial a serotonina, que causam os sintomas na situação de doença (SANDOZ, 2017).

Figura 4 - Estrutura molecular do escitalopram

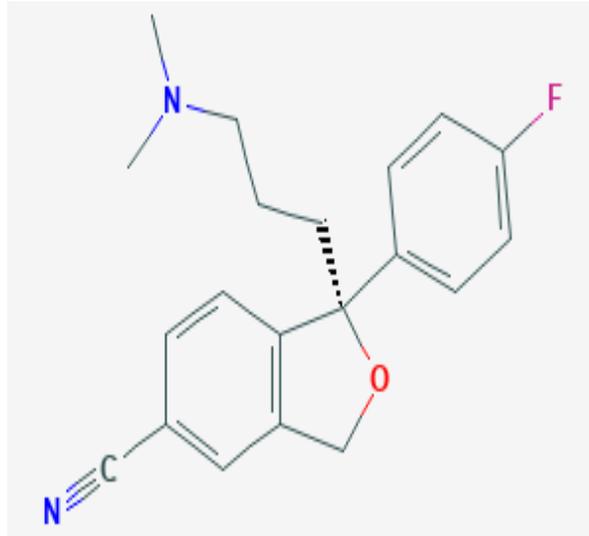


Fonte: Open Chemistry Database.

Conforme explica Burke (2002 apud MHADIK; DHANESSHWAR; KULKARNI; 2007, p. 101)<sup>9</sup>, o escitalopram é o isômero *S* do citalopram, para o qual estudos pré-clínicos demonstraram possuir efeito terapêutico cerca de 30 vezes mais potente que o isômero *R* (FIG. 5).

<sup>9</sup> BURKE, W. J. *Expert Opinion on Investigational Drugs*. v.11, n.10, p. 1477-86. 2002

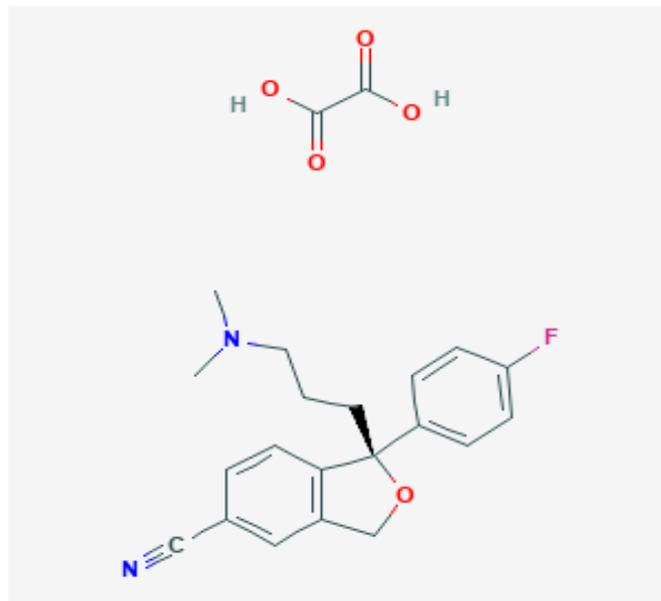
Figura 5 - Estrutura molecular do isômero R de Citalopram



Fonte: Open Chemistry Database.

Como explica Gould (1986, p. 201), a forma comercial do Escitalopram é sobre a estrutura do sal oxalato de escitalopram (FIG. 6), na qual o fármaco é associado à molécula de ácido oxálico para propiciar a maior estabilidade à droga.

Figura 6 - Estrutura molecular do oxalato Escitalopram



Fonte: Open Chemistry Database.

### **3 METODOLOGIA**

Os parâmetros cromatográficos da metodologia foram definidos a partir de resultados experimentais baseados no conhecimento técnico empírico relativo à experiência profissional adquirida através de workshops, treinamentos e cursos de aperfeiçoamento e especialização em cromatografia líquida. Os resultados dos testes preliminares fazem parte de um dossiê confidencial de posse da empresa parceira do estudo.

A metodologia desse trabalho consiste em empregar a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, com detecção em ultravioleta, com intuito de detectar seletivamente as impurezas de degradação do insumo ativo oxalato de escitalopram importado para produção industrial farmacêutica, empregando o software Ezchrom da empresa Agilent Technologies para coleta dos dados.

Para evidenciar os possíveis produtos de degradação referentes a este insumo ativo foi conduzido o estudo de degradação forçada, para o qual a metodologia proposta deve apresentar seletividade adequada para todos os compostos de degradação, bem como para as impurezas conhecidas presentes e para o próprio insumo ativo.

Visto que foi realizado o desenvolvimento da metodologia, não é apreciável, então, nenhuma referência prévia para base do projeto. No entanto todo o estudo foi norteado pelas normativas nacionais da área explicitadas pela ANVISA, principal órgão regulador do setor farmacêutico e mantido pelo ministério da saúde e também pelos guias internacionais observáveis à técnica proposta, entre eles pode-se destacar o ICH, o FDA e os compêndios Farmacopeia Americana (USP), Farmacopeia Europeia, Farmacopeia Britânica e Farmacopeia Japonesa. Em outras palavras, a metodologia desenvolvida poderá ser empregada em pesquisas futuras de tendência de degradação do insumo oxalato de escitalopram em qualquer esfera, pois, atende as regras e colocações dos órgãos mais exigentes e reconhecidos do setor farmacêutico.

#### **3.1 Instrumentação**

A instrumentação utilizada atende as normas de qualidade para boas práticas de fabricação descritas na resolução 17/2010 do Ministério da Saúde. Assim sendo, todos

os instrumentos aqui descritos passam por um processo de qualificação anual e encontram-se em perfeitas condições de uso e apresentam resultados com alto grau de confiabilidade.

### 3.1.1 Balança analítica

Para a realização das pesagens dos padrões e amostras foi empregada uma balança analítica da marca Mettler Toledo, modelo XPS205 (FIG. 7) que possui cinco casas decimais, ou seja, propicia pesagens de até décimos de miligrama.

Figura 7 - Balança XPS205 da marca Mettler Toledo



Fonte: Próprio autor

### 3.1.2 Ultrassom

Visto a complexidade das amostras em questão, foi empregada a técnica de ultrassom para facilitar a solubilização das amostras. Foi utilizado o instrumento de ultrassom em banho de água da marca UNIQUE (FIG. 8).

Figura 8 - Aparelho de ultrassom



Fonte: Próprio autor

### 3.1.3 Cromatógrafo líquido de alta eficiência

Toda a metodologia foi desenvolvida e trabalhada por cromatografia líquida de alta eficiência. Para tanto foi empregado um Cromatógrafo líquido da marca Agilent Technologies do modelo 1260 Infinity I (FIG. 9), munido de amostrador automático com resfriador de amostras, bomba quaternária de alta pressão e baixa dispersão, forno de colunas com controlador de temperatura e detector de arranjo de diodos com varredura de leitura na faixa do ultravioleta partindo de 190 a 400 nanômetros.

Figura 9 - Cromatógrafo líquido Agilent 1260



Fonte: Próprio autor

### 3.1.4 Coluna cromatográfica

A coluna cromatográfica é responsável pela separação dos componentes da matriz dos analitos de interesse.

A coluna disponibilizada (FIG.10) para este estudo é uma Symmetry de 25 centímetros de comprimento, 4,6 milímetros de diâmetro interno e partículas de sílica de 5 micrômetros, de fase ligada octadecilsilano, fabricada pela Waters Company.

Figura 10 - Coluna cromatografica Symmetry



Fonte: Próprio autor

### 3.1.5 Câmara de fotoestabilidade

A câmara de fotoestabilidade é um aparato analítico onde as amostras são expostas a radiação luminosa nas faixas do ultravioleta e visível, com intuito de evidenciar a possível sensibilidade do insumo ativo a clivagem fotolítica.

A FIG. 11 traz a ilustração do instrumento utilizado para este estudo da marca Miolab analítica.

Figura 11 – Câmara de fotoestabilidade



Fonte: Próprio autor

### 3.1.6 Estufa de aquecimento

A estufa utilizada da marca Valcrom (FIG. 12), possui faixa de operação de 25°C a 255°C, com alta precisão e possibilidade de geração de vácuo interno para reduzir possíveis impactos de reações de oxidação perante o oxigênio atmosférico.

Figura 12 – Estufa de aquecimento Valcrom



Fonte: Próprio autor

### 3.2 Padrões de referência

Os padrões disponibilizados possuem alta pureza e são caracterizados segundo a resolução 166/2017 do Ministério da Saúde.

Foram empregados os padrões das impurezas conhecidas do insumo Oxalato de escitalopram, conforme TAB. 3 (USP, 2018) e o padrão do próprio insumo ativo.

#### 3.2.1 Padrão de oxalato de escitalopram

O padrão de oxalato de escitalopram disponibilizado é comercializado pela USP, e possui pureza de 99,4%.

Tabela 3 - Padrões de impurezas conhecidas empregadas no estudo

Impureza	Origem	Lote	Pureza	Validade
5-Dimetilaminobutiril	Micro Labs	ECO/I012/074	93,9%	30/07/2018
Composto relacionado A	USP	G0L 327	100%	VIGENTE
Diol de Citalopram	Micro Labs	ECO/I012/015	99%	30/06/2018
Ácido Carboxílico	Micro Labs	ECO/I012/010P	99,3%	30/06/2018

Continuação tabela 3 - Padrões de impurezas conhecidas empregadas no estudo

Composto relacionado B	USP	G0L 552	100%	VIGENTE
Alceno de Citalopram	Micro Labs	ESC/I012/099	93%	24/07/2019
Composto relacionado C	USP	G0L 177	100%	VIGENTE
Composto relacionado D	USP	H0L 320	100%	VIGENTE
Composto relacionado E	USP	G0M 155	100%	VIGENTE
Composto relacionado F	USP	F1K 331	100%	VIGENTE

Fonte: USP, 2018.

### 3.3 Reagentes

Os reagentes disponibilizados e dispostos na TAB. 4 também possuem alta pureza, esse inclusive é um dos critérios para os mesmos serem empregados em cromatografia líquida de alta eficiência.

Tabela 4 - Reagentes disponíveis para o estudo

Impureza	Origem	Lote	Pureza	Validade
Metanol	J. T. Backer	1805610016	99,9%	24/08/2022
Acetonitrila	Merck	04210207	99,9%	31/12/2020
Fosfato de Potássio Monobásico	Merck	280002	100%	31/10/2021
Ácido Fosfórico	Labsynth	051034	85%	04/09/2021
Trietilamina	Sigma Aldrich	614019	99,5%	31/10/2019
Hidróxido de Sódio	Labsynth	376033	97%	21/11/2020
Sulfato de Cobre	Vetec Química	567003	100%	05/2019
Peróxido de Hidrogênio	Labsynth	507011	30%	06/10/2019
Ácido Clorídrico	Labsynth	043080	37%	30/11/2020

Fonte: próprio autor.

### 3.4 Metodologia analítica proposta

A metodologia analítica proposta emprega sistema de eluição gradiente entre três soluções fase móvel chamadas de solução A, B e C, mantidas nas proporções descritas na TAB. 5, em função do tempo. A primeira se trata uma mistura de 70 volumes de tampão fosfato de potássio 3,4 g.L<sup>-1</sup>, com pH 3,4, 25 volumes de Acetonitrila e 5 volumes de Metanol. A solução B se trata de uma mistura de 1 volume de Trietilamina e 1000 volumes de Acetonitrila, enquanto a solução C é apenas água ultrapura.

Tabela 5 - Proporção do gradiente de fase móvel em função do tempo

Tempo (minutos)	Proporção de solução A	Proporção de solução B	Proporção de solução C
0' 0"	65	5	30
5' 0"	62	8	30
25' 0"	53	12	35
40' 0"	56	14	30
60' 0"	55	25	20
60' 1"	65	5	30
80' 0"	65	5	30

Fonte: próprio autor.

As configurações do instrumento cromatográfico consistem em detecção em 230 nanômetros na faixa de radiação luminosa ultravioleta para evidenciar todos os possíveis produtos de degradação e impurezas presentes, 0,005 mL de volume de injeção da amostra para não saturar o sistema e garantir picos com características de simetria e pratos teóricos adequados, fluxo de 500 mL por minuto de fase móvel para carrear os componentes pela coluna cromatográfica, a qual deve ser mantida a temperatura de 35°C pelo tempo do gradiente.

#### 3.4.1 Preparo das soluções

As soluções preparadas seguem as orientações da ANVISA para condução de estudos de degradação forçada em insumos farmacêuticos.

### **3.4.1.1 Solução de impurezas conhecidas**

Esta solução contém todas as impurezas conhecidas de Escitalopram contidas nas referências já citadas. Baseado em seus respectivos limites permitidos, as massas aferidas devem ser proporcionais à concentração de trabalho requerida.

Assim sendo, as massas aferidas foram de 6,0 mg de 5-Dimetilaminobutilil, 3,0 mg de Composto A de Citalopram, 3,0 mg de Diol de Escitalopram, 3,0 mg de Ácido Carboxílico de Escitalopram, 3,0 mg de Composto B de Citalopram, 3,0 mg de Alceno de Escitalopram, 3,0 mg de Composto C de Citalopram, 3,83 mg de oxalato de escitalopram, 3,0 mg de Composto D de Citalopram, 3,0 mg de Composto E de Citalopram e 3,0 mg de Composto F de Citalopram.

As massas aferidas dos compostos foram transferidas para um único balão volumétrico de 1000 mL, o qual teve seu volume preenchido com uma mistura de 70 volumes tampão fosfato de potássio 3,4 g.L<sup>-1</sup> pH 4,5, 25 volumes de Acetonitrila e 5 volumes de Metanol.

### **3.4.1.2 Preparo das soluções do Estudo de Degradação Forçada (estresse)**

A degradação do oxalato de escitalopram foi estudada sob sete condições de estresse: hidrolítico não catalisado, hidrolítico catalisado por pH ácido, hidrolítico catalisado por pH alcalino, hidrolítico catalisado por metal de transição, oxidativo, fotolítico e termolítico.

#### **3.4.1.2.1 Estresse hidrolítico não catalisado (hidrólise neutra)**

Transferiu-se, 76,5 mg de oxalato de escitalopram para frascos de vidro herméticos, aos quais adicionou-se 5 mL de água, o qual, após lacrado, foi levado em aquecimento em estufa à 80°C até o período do estudo.

No momento da avaliação da solução através da técnica de CLAE, transferiu-se o conteúdo do frasco para balão volumétrico de 20 mL, adicionando 5 mL de metanol e agitou-se até completa solubilização. Após a agitação completou-se o volume do balão

com uma mistura de 70 volumes tampão fosfato de potássio  $3,4 \text{ g L}^{-1}$  pH 4,5; 25 volumes de acetonitrila e 5 volumes de metanol.

#### **3.4.1.2.2 Estresse hidrolítico catalisado por pH ácido (hidrólise ácida)**

Transferiu-se, 76,5 mg de oxalato de escitalopram para frascos de vidro herméticos, aos quais adicionou-se 5 mL ácido clorídrico  $1,0 \text{ mol. L}^{-1}$ , o qual, após lacrado, foi levado em aquecimento em estufa à  $80^{\circ}\text{C}$  até o período do estudo.

No momento da avaliação da solução através da técnica de CLAE, transferiu-se o conteúdo do frasco para balão volumétrico de 20 mL, adicionando 5 mL de metanol e agitou-se até completa solubilização. Após a agitação completou-se o volume do balão com uma mistura de 70 volumes tampão fosfato de potássio  $3,4 \text{ g L}^{-1}$  pH 4,5; 25 volumes de acetonitrila e 5 volumes de metanol.

#### **3.4.1.2.3 Estresse hidrolítico catalisado por pH alcalino (hidrólise básica)**

Transferiu-se, 76,5 mg de oxalato de escitalopram para frascos de vidro herméticos, aos quais adicionou-se 5 mL Hidróxido de Sódio  $1,0 \text{ mol L}^{-1}$ , o qual, após lacrado, foi levado em aquecimento em estufa à  $80^{\circ}\text{C}$  até o período do estudo.

No momento da avaliação da solução através da técnica de CLAE, transferiu-se o conteúdo do frasco para balão volumétrico de 20 mL, adicionando 5 mL de metanol e agitou-se até completa solubilização. Após a agitação completou-se o volume do balão com uma mistura de 70 volumes tampão fosfato de potássio  $3,4 \text{ g L}^{-1}$  pH 4,5; 25 volumes de acetonitrila e 5 volumes de metanol.

#### **3.4.1.2.4 Estresse hidrolítico catalisado por metal transição (hidrólise catalisada)**

Transferiu-se, 76,5 mg de oxalato de escitalopram para frascos de vidro herméticos, aos quais adicionou-se 5 mL sulfato de cobre  $0,05 \text{ mol. L}^{-1}$ , o qual, após lacrado, foi levado em aquecimento em estufa à  $80^{\circ}\text{C}$  até o período do estudo.

No momento da avaliação da solução através da técnica de CLAE, transferiu-se o conteúdo do frasco para balão volumétrico de 20 mL, adicionando-se 5 mL de metanol e

em seguida agitou-se até completa solubilização. Após a agitação completou-se o volume do balão com uma mistura de 70 volumes tampão fosfato de potássio  $3,4 \text{ g L}^{-1}$  pH 4,5; 25 volumes de acetonitrila e 5 volumes de metanol.

#### **3.4.1.2.5 Estresse oxidativo (oxidação)**

Transferiu-se, 76,5 mg de oxalato de escitalopram para frascos de vidro herméticos, aos quais adicionou-se 5 mL peróxido de hidrogênio 3%, o qual, após lacrados, os frascos foram levados em aquecimento em estufa à  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  até o período do estudo.

No momento da avaliação da solução através da técnica de CLAE, transferiu-se o conteúdo do frasco para balão volumétrico de 20 mL, adicionando 5 mL de metanol e agitou-se até completa solubilização. Após a agitação completou-se o volume do balão com uma mistura de 70 volumes tampão fosfato de potássio  $3,4 \text{ g L}^{-1}$  pH 4,5; 25 volumes de acetonitrila e 5 volumes de metanol.

#### **3.4.1.2.6 Estresse fotolítico**

Pesou-se 76,5 mg de oxalato de escitalopram exposto a estresse fotolítico em câmara de fotoestabilidade por um período de 10 dias.

No momento da avaliação da solução através da técnica de CLAE, transferiu-se o conteúdo do frasco para balão volumétrico de 20 mL, adicionando 5 mL de metanol e agitou-se até completa solubilização. Após a agitação completou-se o volume do balão com uma mistura de 70 volumes tampão fosfato de potássio  $3,4 \text{ g L}^{-1}$  pH 4,5; 25 volumes de acetonitrila e 5 volumes de metanol.

#### **3.4.1.2.7 Estresse térmico**

Pesou-se 76,5 mg de oxalato de escitalopram exposto a estresse por aquecimento a  $105 \text{ }^\circ\text{C}$  em estufa de aquecimento por um período de 10 dias.

No momento da avaliação da solução através da técnica de CLAE, transferiu-se o conteúdo do frasco para balão volumétrico de 20 mL, adicionando 5 mL de metanol e

agitou-se até completa solubilização. Após a agitação completou-se o volume do balão com uma mistura de 70 volumes tampão fosfato de potássio 3,4 g L<sup>-1</sup> pH 4,5; 25 volumes de acetonitrila e 5 volumes de metanol.

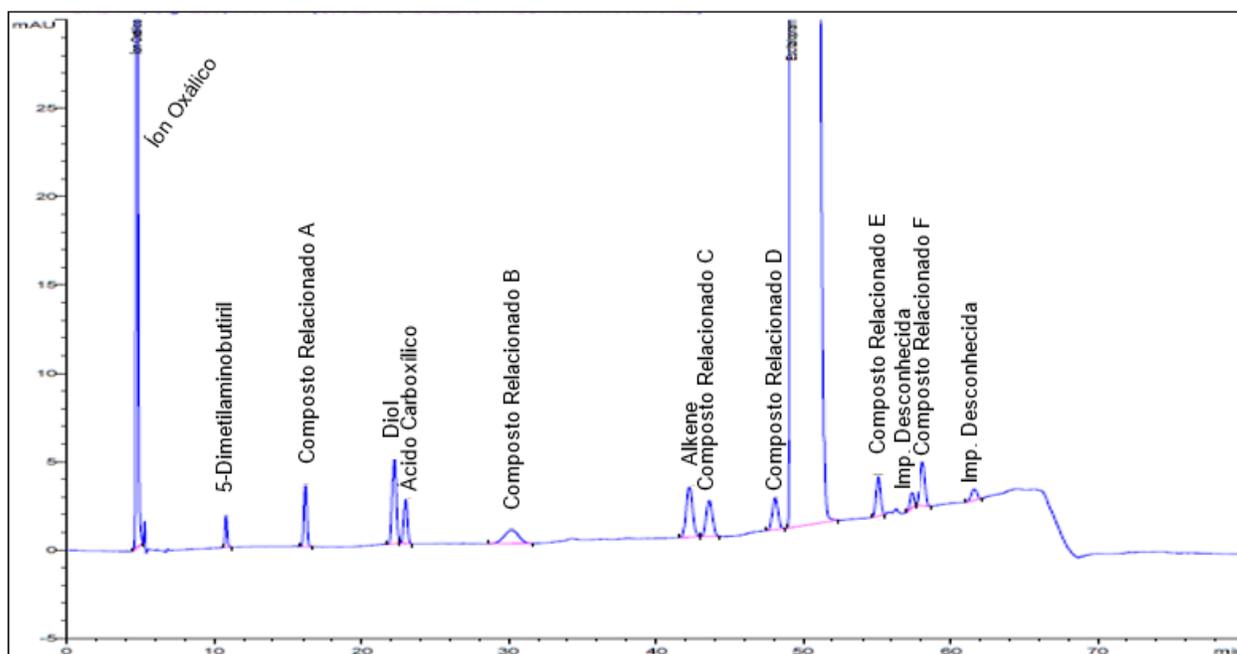
## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar a seletividade do método analítico, bem como o perfil de degradação potencial do insumo ativo oxalato de escitalopram, foram realizados os estudos de hidrólise ácida, hidrólise básica, hidrólise neutra, oxidação, hidrólise catalisada, fotólise e termólise, segundo o que é explicitado nas normas vigentes e nos guias internacionais de pesquisa de produtos de degradação em insumos farmacêuticos.

### 4.1 Seletividade para as impurezas conhecidas

A injeção das impurezas conhecidas de oxalato de escitalopram mostrou que o método proposto é seletivo para todos os compostos de interesse, pois, conforme pode-se verificar na FIG.13, todos os picos eluídos apresentam separação satisfatória.

Figura 13 - Gráfico da injeção de todos compostos de interesse no método proposto



Fonte: Próprio autor

## 4.2 Estudo de degradação forçada

Como já explicitado, o estudo de degradação forçada permite evidenciar a que condições o insumo farmacêutico ativo é especialmente sensível, ou seja, em que situações reacionais o fármaco pode decompor-se em outros compostos que não têm o mesmo efeito farmacológico e que podem apresentar potencial toxicológico ao paciente.

Com esta pesquisa o fabricante do medicamento pode entender a quais características ambientais seu produto não é estável e, assim sendo, pode tomar a decisão sobre características de embalagem ou acondicionamento especial.

O quadro 3 demonstra um resumo das condições de exposição das amostras pelos respectivos períodos pertinentes à estabilidade do insumo farmacêutico.

QUADRO 3 - Esquema de exposição das amostras

Via degradativa	Condições	Tempo
Termolítica	105°C	10 dias
Umidade	5 mL de água	10 dias
Hidrólise ácida	5 mL Ácido Clorídrico 0,1 mol L <sup>-1</sup>	4 dias
Hidrólise básica	5 mL Hidróxido de Sódio 0,1 mol L <sup>-1</sup>	15 minutos
Oxidação	5 mL Peróxido de Hidrogênio 3%	1 dia
Fotólise	1 200 000 lux.hora	10 dias
Catálise metálica	0,05 mol L <sup>-1</sup> de Sulfato de Cobre	1 dia

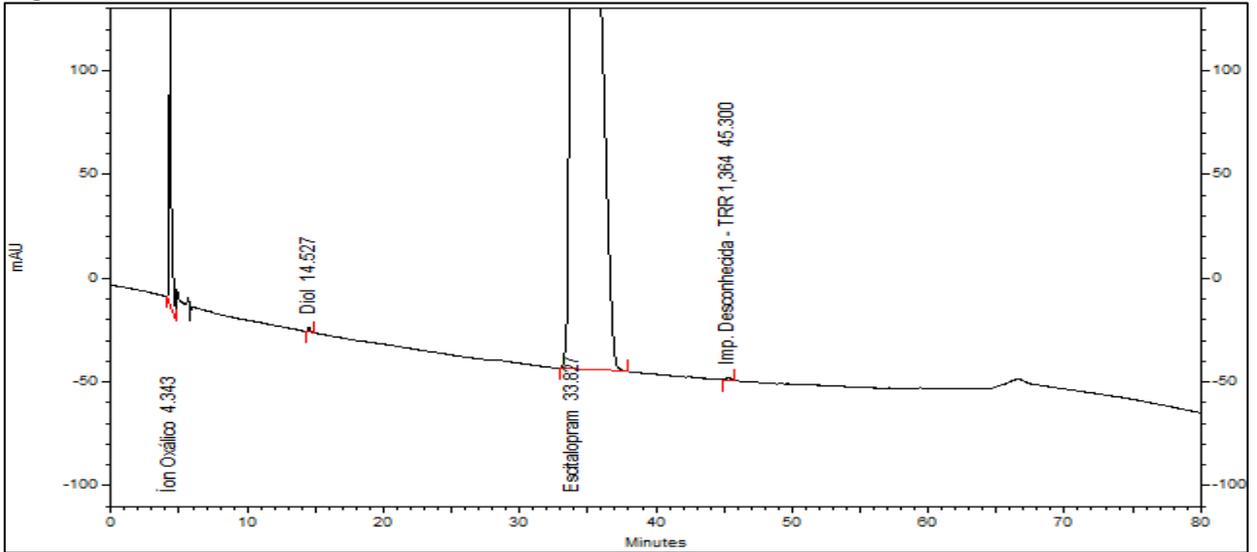
Fonte: Próprio autor

### 4.2.1 Amostra controle

A amostra controle se trata do insumo farmacêutico ativo sem nenhuma exposição a estressantes, analisado na metodologia desenvolvida para ser utilizado como comparativo no que se refere à formação de novos produtos de degradação nas amostras expostas.

Como pode ser verificado na FIG. 14, o insumo ativo sem exposição apresenta dois produtos de degradação em pequena relevância, sendo eles o diol e uma impureza desconhecida com tempo de retenção relativo de 1,364.

Figura 14 - Gráfico da amostra controle

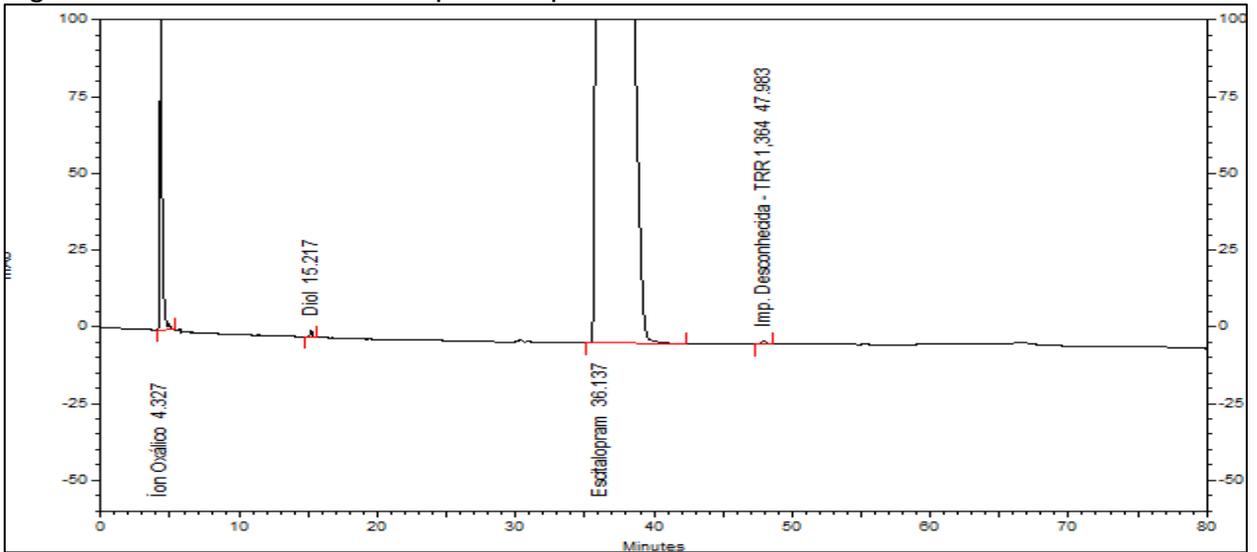


Fonte: Próprio autor

#### 4.2.2 Hidrólise neutra

Devido ao caráter lento, avaliou-se as amostras expostas a esta condição diretamente no período de 10 dias de exposição, onde foi possível constatar que a molécula oxalato de escitalopram apresenta estabilidade por não ocorrer, conforme ilustra FIG. 15, a formação de nenhum produto de degradação.

Figura 15 - Oxalato de escitalopram exposto à hidrólise neutra.



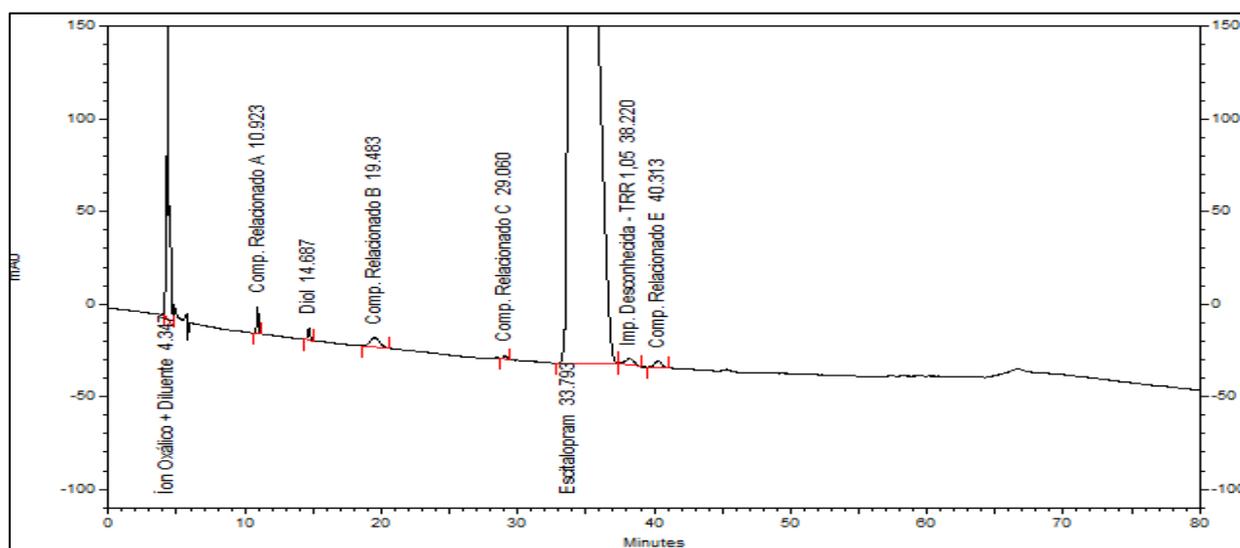
Fonte: Próprio autor

### 4.2.3 Hidrólise ácida

Na condição de hidrólise ácida verificou-se que após 96 horas de exposição ao estressante. Houve aparecimento de cinco produtos de degradação já conhecidos que foram evidenciados pelo tempo de retenção relativo. São eles, Composto Relacionado A, Diol, Composto Relacionado B, Composto Relacionado C, Composto Relacionado E, e um produto de degradação desconhecido com tempo de retenção relativo de 1,05.

A FIG. 16 demonstra o cromatograma da amostra exposta à hidrólise ácida.

Figura 16 - Oxalato de escitalopram exposto à hidrólise ácida por 96 horas.

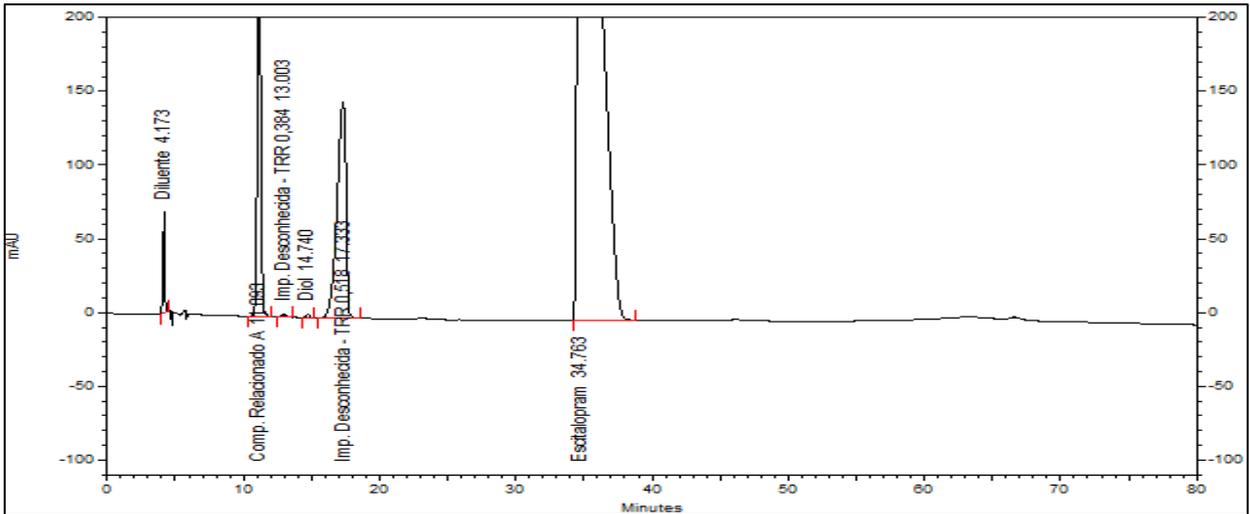


Fonte: Próprio autor

### 4.2.4 Hidrólise básica

A decomposição parcial do fármaco ocorreu em apenas 15 minutos de exposição, ocorrendo, conforme ilustra FIG. 17 a formação de dois produtos de degradação evidentemente principais e outro em proporção menor, sendo respectivamente o Composto Relacionado A, um produto de degradação desconhecido de tempo de retenção relativo de 0,518, e um produto de degradação também desconhecido com tempo de retenção relativo de 0,384.

Figura 17 - Oxalato de escitalopram exposto à hidrólise básica por 15 minutos.

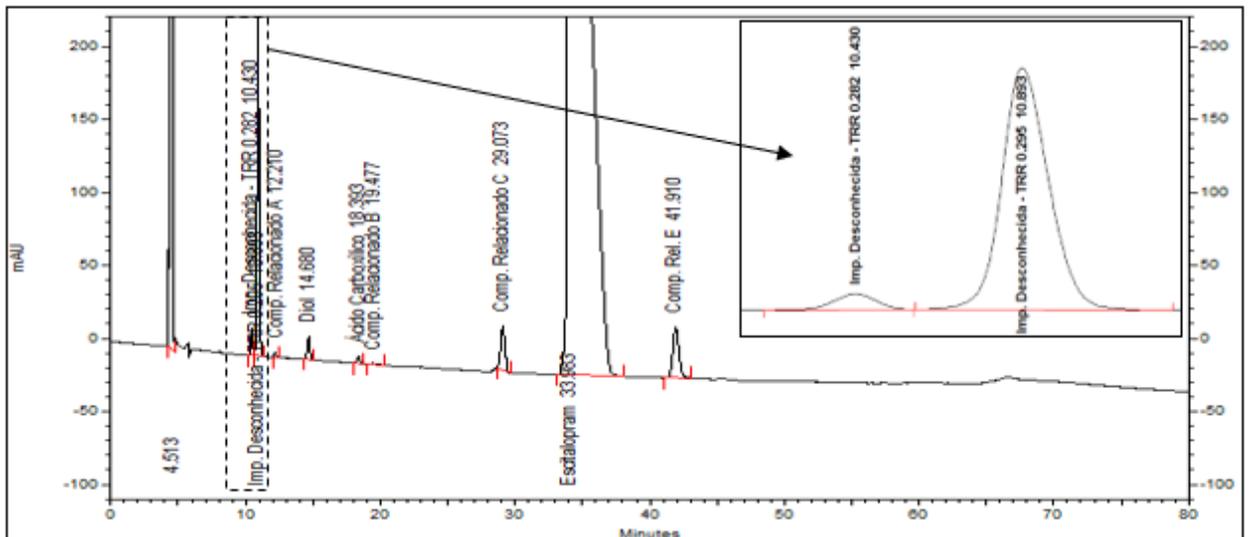


Fonte: Próprio autor

#### 4.2.5 Oxidação

Conforme FIG. 18, após o período de 24 horas de exposição verificou-se a formação dos produtos de degradação conhecidos Composto Relacionado A, Ácido Carboxílico, Composto Relacionado B, Composto Relacionado C e Composto Relacionado E e dos produtos de degradação desconhecidos com tempos de retenção relativo de 0,282 e 0,295 e incremento do teor de diol.

Figura 18 - Oxalato de escitalopram exposto a oxidação por 24 horas.



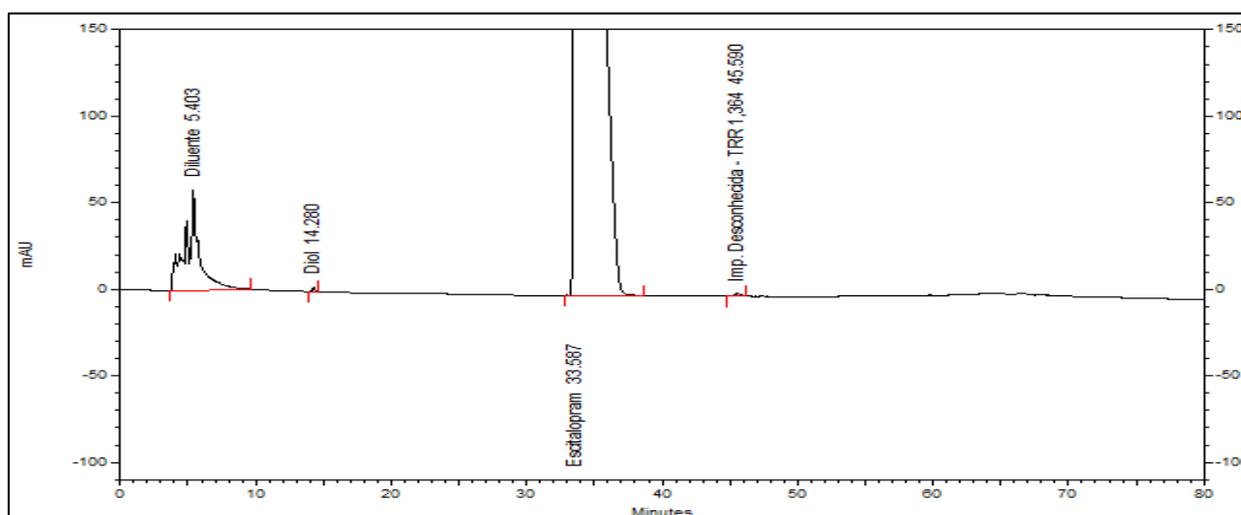
Fonte: Próprio autor

#### 4.2.6 Hidrólise catalisada

Devido à característica catalisadora ou promotora de reações dos íons metálicos, o estudo foi conduzido em apenas 24 horas.

Durante o período de exposição pôde-se verificar que o insumo oxalato de escitalopram não sofre grande influência por esta condição de estresse, não ocorrendo aparecimento de nenhum novo produto de degradação (FIG. 19).

Figura 19 - Oxalato de escitalopram exposto à catálise metálica por 24 horas.

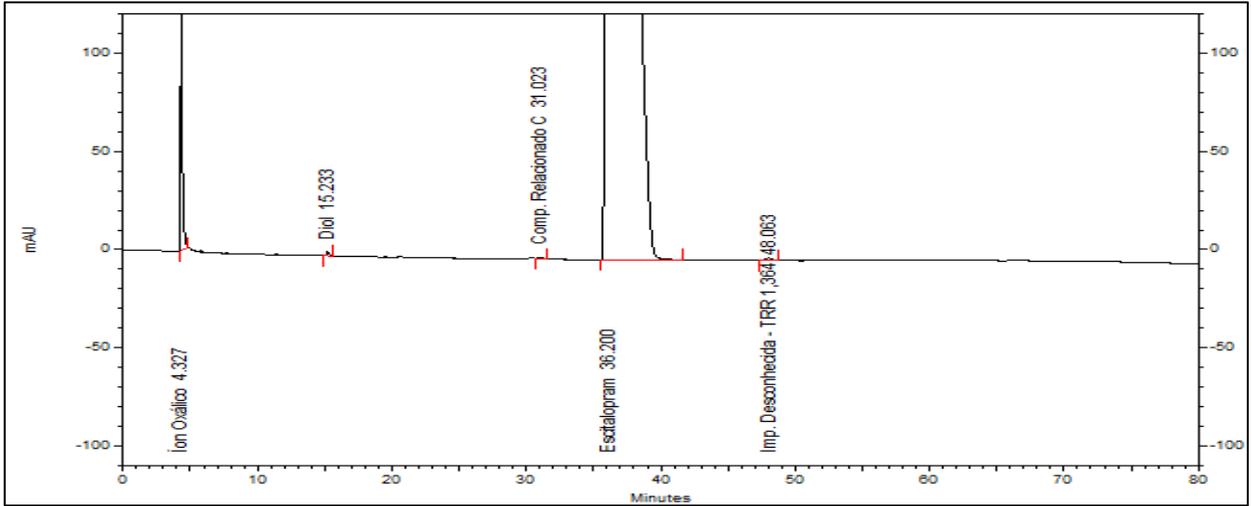


Fonte: Próprio autor

#### 4.2.7 Fotólise

A avaliação do estresse fotolítico ocorreu por um período de 10 dias (OMS, p. 139, 2005). Após este período não ocorreu a degradação considerável do insumo ativo, além de não ter sido evidenciado crescimento apreciável de nenhum composto de degradação. Pode-se salientar, no entanto, que na avaliação dos resultados verifica-se o aparecimento de um pico referente ao Composto Relacionado C (FIG. 20).

Figura 20 - Oxalato de escitalopram exposto à estresse fotolítico por 10 dias.

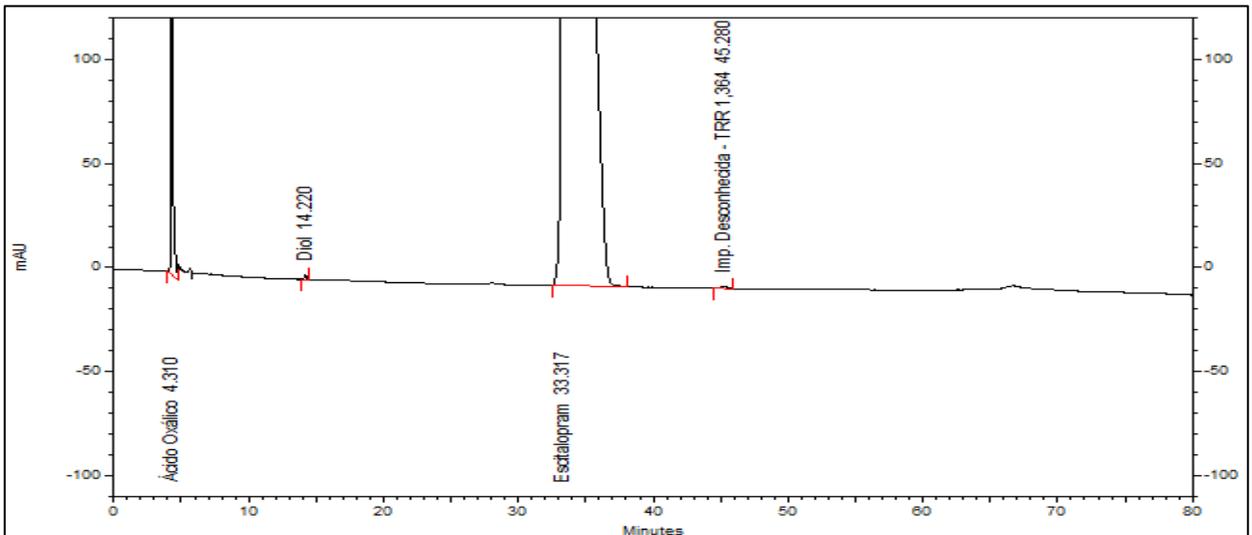


Fonte: Próprio autor

#### 4.2.8 Termólise

Conforme ilustra a FIG. 21, verificou-se que sob estresse térmico a molécula de oxalato de escitalopram se apresenta estável por um período de 10 dias de exposição, não ocorrendo aparecimento de novos produtos de degradação.

Figura 21 - Oxalato de escitalopram exposto à estresse termico por 10 dias.



Fonte: Próprio autor

Assim como os resultados verificados por Mahadik, Dhaneshwar e Kulkarni (2007), em seu estudo de aplicação de uma metodologia analítica por cromatografia de camada delgada para o produto oxalato de escitalopram comprimidos, os resultados do estudo de degradação forçada deste trabalho demonstram que o insumo ativo oxalato de escitalopram se apresenta estável nas condições de estresse fotolítico, termolítico, catálise metálica e hidrólise neutra, se decompondo, no entanto, nas condições de hidrólise ácida, hidrólise básica e oxidação.

Em um estudo similar para determinação simultânea de impurezas orgânicas de oxalato de escitalopram e clonazepam na formulação composta destes dois insumos ativos, Kakde et al. (2012) cita que sob a condição de oxidação o fármaco oxalato de escitalopram é estável, não havendo formação de produtos de degradação. Todavia verifica-se que tal diferença ocorre principalmente pela presença dos componentes do placebo da formulação, visto que a degradação do Escitalopram é notória na literatura farmacêutica, ocorrendo a formação de principalmente Composto Relacionado C e Composto Relacionado E (DHANESHWAR et al., 2009; MANAV et al., 2011).

Com base nos resultados determinou-se que o perfil de degradação potencial do insumo ativo oxalato de escitalopram compreende os compostos conhecidos Composto Relacionado A de Citalopram, Composto Relacionado B de Citalopram, Composto Relacionado C de Citalopram, Composto Relacionado E de Citalopram, Diol de Escitalopram e Ácido Carboxílico de Escitalopram, bem como alguns produtos de degradação desconhecidos de menor expressão (RAMAN et al., 2010; DHANESHWAR et al., 2009; MANAV et al., 2011; BP, 2018).

## **5 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Este trabalho demonstrou a capacidade seletiva de um método analítico desenvolvido para detecção das impurezas e produtos de degradação do insumo ativo oxalato de escitalopram, aplicando a ele as condições necessárias para comprovar sua capacidade de evidenciar tais compostos de forma específica na presença dos demais componentes.

Aplicando tal metodologia ao estudo de degradação forçada do fármaco, evidenciou-se que o mesmo é sensível às condições reacionais de hidrólise ácida, hidrólise básica e oxidação, e assim sendo, tais informações podem ser utilizadas para desenvolver a formulação do medicamento, bem como adaptar o material de embalagem primária e secundária e fornecer orientações de uso do medicamento por parte do paciente na bula que o acompanha.

Visto o risco toxicológico que produtos de degradação podem trazer ao paciente e à estabilidade dos produtos farmacêuticos, sugere-se que sejam realizados estudos de quantificação destas impurezas na formulação do produto para garantir a integridade do medicamento. Para tanto poderá ser empregada a metodologia aqui desenvolvida, realizando, no entanto, a validação da mesma segundo exige as normas nacionais e os guias internacionais da área.

## REFERÊNCIAS

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G., ALLEN JR. L. V. **Farmacotécnica: Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 6. ed. São Paulo: Premier, 2000. p. 568.

\_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_.; \_\_\_\_\_. **Farmacotécnica: Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 8. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007, p. 775.

ANVISA. Anuário Estatístico. **Genérico é medicamento mais comercializado**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/noticias>>. Acesso em: 03 abr. 2018.

\_\_\_\_\_. **Farmacopeia Brasileira 5ª Edição**, v. 1, p. 109-114, Brasília. 2010.

\_\_\_\_\_. Gerência-Geral de Medicamentos. **Categorias de Medicamentos**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 03 abr. 2018.

\_\_\_\_\_. Insumos farmacêuticos. **Revista Saúde Pública Brasília**, v. 40, n. 2, p. 359-360. 2006.

BAERSCHI, S. W.; JANSEN, P. J.; ALSANTE, K. M. Stress Testing: A predictive tool. In: BAERTSCHI, S. W.; ALSANTE, K. M.; REED, R. A. **Pharmaceutical Stress Testing: Predicting drug degradation**. Londres: Informa healthcare, 2011. Cap. 2, p. 10-49.

BALBANI, A. P. S.; STELZER, L. B.; MONTOVANI, J. C. Excipientes de medicamentos e as informações da bula. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 72, n. 3, p. 400-406, mai./jun. 2006.

BARACAT, M. M. et al. Estudo comparativo de excipientes em diferentes técnicas de preparação de comprimidos de cloridrato de propranolol. **Revista Semina**, v. 22, n. 1, p. 19-24. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Resolução número 1**. Brasília, DF. 2005.

BRASIL. \_\_\_\_\_. **Guia para obtenção do perfil de degradação, e identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos**. Brasília, DF. 2015a.

BRASIL. \_\_\_\_\_. **Nota técnica conjunta 01/2016**. de 27 de janeiro de 2016. Notificação das infecções relacionadas à assistência à saúde e resistência microbiana. Brasília, DF. 2016a. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 02 jul. 2018.

BRASIL. \_\_\_\_\_. **Perguntas e Respostas RDC 53/2015 e Guia 04/2015**, Brasília, DF. 2016b.

- BRASIL. \_\_\_\_\_. **Resolução da Diretoria Colegiada número 17**. Brasília, DF. 2010.
- BRASIL. \_\_\_\_\_. **Resolução da Diretoria Colegiada número 35**. Brasília, DF. 2012a.
- BRASIL. \_\_\_\_\_. **Resolução da Diretoria Colegiada número 45**. Brasília, DF. 2012b.
- BRASIL. \_\_\_\_\_. **Resolução da diretoria colegiada número 50**. Brasília, 2011.
- BRASIL. \_\_\_\_\_. **Resolução da Diretoria Colegiada número 53**. Brasília, DF. 2015b.
- BRASIL. \_\_\_\_\_. **Resolução da Diretoria Colegiada número 60**. Brasília, DF. 2014.
- BRASIL. \_\_\_\_\_. **Resolução da Diretoria Colegiada número 67**. Brasília, DF. 2007.
- BRASIL. \_\_\_\_\_. **Resolução da Diretoria Colegiada número 166**. Brasília, DF. 2017.
- CABRAL, C.; PITA, J. R. **Ciclo de Exposições: Temas de Saúde, Farmácia e Sociedade. Catálogo**: 2. Formas e formatos dos medicamentos – a evolução das formas farmacêuticas. 2. ed. Coimbra: Pantone4, 2015.
- CARSTENSEN, J.T. **Drug stability: principles and practices**. v. 43. New York: Marcel Dekker, 1990. p. 4-6.
- CARVALHO, J. P. et al. Estabilidade de Medicamentos no âmbito da Farmacovigilância. **Fármacos & Medicamentos**. [S.l.]. p. 22-27. 2005. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/documents>>. Acesso em: 02 de maio 2018.
- CAVALCANTI, O. A. Excipientes farmacêuticos: perspectivas dos polissacarídeos na pesquisa e desenvolvimento de novos sistemas de liberação. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v. 6, n. 1, p. 53-56, jan./abr. 2002.
- CIENFUEGOS, F.; VAISTMAN, D. Cromatografia Líquida de alta performance. **Análise Instrumental**. Rio de Janeiro: Interciência, 2000. Cap. 8, p. 320.
- COLINS, H. C.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Cromatografia líquida de alta eficiência. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, cap. 9, p. 360-367.
- CONSELHO REGIONAL DE QUÍMICA 4ª REGIÃO. **Minicursos 2010**. Conceitos fundamentais de cromatografia a líquido de alto desempenho. São José do Rio Preto, 2010.
- DHANESHWAR, S. R. Column Liquid Chromatography-Ultraviolet and Column Liquid Chromatography/Mass Spectrometry Evaluation of Stress Degradation Behavior of Escitalopram Oxalate. **Journal of AOAC International**, v. 92, n. 1, p. 138-147, jan. 2009.

EUROPEAN DIRECTORATE FOR QUALITY OF MEDICINES AND HEALTH CARE (EDQM). **European Pharmacopeia Edition 8<sup>th</sup>**. v. 1, cap. 2.2.46, [S.l.]. 2014.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). **FDA Guidance for Industry, Analytical Procedures and Methods**. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm122858.pdf>>. Acesso em: 25 maio. 2018.

GOULD, P. J. Salt selection for basic drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, [S. l], v. 33, n. 86, p. 201-217, mar. /maio, 1986.

HAGE, D. S.; CARR, J. D. Cromatografia Líquida. **Química analítica e análise quantitativa**. São Paulo: Pearson Education do Brasil, cap. 22, p. 540-544.

HIJAZIN, C. A. H.; SIMÕES, A. T.; SILVEIRA, D. R. Hidrólise ácida, alcalina e enzimática. **Revista Atitude**, Porto Alegre, v. 4, n. 7, p. 89-93, jan./jun. 2012.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. **Q1A(R2): Stability Testing of New Drug Substances and Products**. Genebra, 2006.

\_\_\_\_\_. **Q3A: Impurities in new drug substances**. Genebra, 2006.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos**. [S. l], v.2, p. 6, 2007.

KAKDE, R. B. et al. Stability-Indicating RP-HPLC Method for the Simultaneous Determination of Escitalopram Oxalate and Clonazepam. **Journal of Chromatographic Science**, v. 7, p. 490-495, nov. 2012.

LEITE, E. G. **Estabilidade: importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia de fármacos e medicamentos**. 2006, 199 p., Dissertação Mestrado - Universidade Federal do Rio Grande do Sul-UFRGS, Porto Alegre, 2006.

LINDSAY, S. Introduction: History and basic principles. **High Performance Liquid Chromatography: Analytical Chemistry by Open Learning**. Londres: Thames Polytechnic, 1987. Cap. 1, p. 1-7.

MAHADIK, M. V.; DHANESHWAR, S. R.; KULKARNI, M. J. Application of Stability Indicating HPTLC Method for Quantitative Determination of Escitalopram Oxalate in Pharmaceutical Dosage Form. **Eurasian Journal of Analytical Chemistry**, [S. l], v. 2, n. 2, p. 101-117, abr./maio, 2007.

MANAV, S. et al. Citalopram Hydrobromide: degradation product characterization and a validated stability-indicating LC-UV method. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 22, n. 5, p. 836-848, 2011.

MELO, R. O. M. **Produtos de Degradação: Regulamentação sanitária e proposta de monografia para qualificação**. 2012, 115 p., Dissertação Mestrado - Universidade de Brasília-UNB, Brasília, 2012.

MENDHAM, J. et al. Cromatografia com fase líquida. In:\_\_\_\_\_. **Vogel: Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro: LTC – Livros Técnicos e Científicos Editora LTDA, 2017. Cap. 8.

NUNES L.C.C. et al. Câmara climática: estudo de caso. **Revista Brasileira de Farmácia**, Recife, v.88, n. 3, p. 137-140, jan. 2007.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE - OMS. **The World Medicines Situation Report**. 3<sup>rd</sup>. ed. [S.l.], 2011.

\_\_\_\_\_. **Draft Regional Guidelines on Stability Testing of Active Substances and Pharmaceutical Products**. Genebra, 2006.

\_\_\_\_\_. **Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations**. v. 39, p. 139, Genebra, 2005.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 491-502, out./dez. 2007.

RAMAN, B. et al., Structural elucidation of process-related impurities in escitalopram by LC/ESI-MS and NMR. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 53, p. 895-901, 2010.

REAL SOCIETY OF CHEMISTRY. **Diode array detector**. Disponível em: <<http://www.rsc.org/publishing/journals/prospect/ontology.asp?id=CMO:0002503&MSID=C1JA10164A>>. Acesso em: 28 maio. 2018.

ROCHA, J. M. Estudo de estabilidade de medicamentos. **Revista acadêmica Oswaldo Cruz**, v.2, n. 7, p. 2-12, jul./set. 2015.

ROCHA, T. G.; GALDENE, S. B. A importância do controle de qualidade na Indústria farmacêutica. **Revista UNINGÁ**, v.20, n. 2, p. 97-103, out./dez. 2014.

ROLIM, L. A. **Estudo de Degradação do fármaco Benznidazol utilizado no combate à doença de chagas por hidrólise, oxidação, fotólise e termodegradação**. 2010, 131 p., Dissertação Mestrado – Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, Recife, 2010.

SANDOZ DO BRASIL INDUSTRIA FARMACÊUTICA LTDA. **Bula de oxalato de escitalopram Comprimidos 10mg e 20mg**. Disponível em: <[http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila\\_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=2599092017&pldAnexo=5014061](http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmVisualizarBula.asp?pNuTransacao=2599092017&pldAnexo=5014061)>. Acesso em: 25 de maio 2018.

SILVA, A. V. A. et al. Presença de excipientes com potencial para indução de reações adversas em medicamentos comercializados no Brasil. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 3, p. 397-405. 2008.

SILVA, K. E. R. et al. Modelos de Avaliação da Estabilidade de Fármacos e Medicamentos para a Indústria Farmacêutica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e Aplicadas**. [S. l.]. v. 30, n. 2, p. 129-135, 2009.

SOUTHERN AFRICAN DEVELOPMENT COMMUNITY. **Stability v1: Guideline for stability testing**. [S. l.]. 2004.

STORPIRTIS, S. et al. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 35, n. 1, p. 1-16, jan./jun. 1999.

TABORIANSKI, A. M. **Validação de métodos para análise e estudos de estabilidade de anti-retrovirais em preparações farmacêuticas**. 2003. 167 p. Dissertação para obtenção do título de mestre - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

THOMPSON, J.E. **A Prática farmacêutica na manipulação de medicamentos**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

TROLLER, A. B.; SCHMIDT C. A. **Excipientes à base de celulose e lactose para compressão direta**. *Revista Disciplinary Scientia*, v. 6, n. 1, p. 61-80. 2005.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. **Pharmacopeia Convention: Reference standards**. Disponível em: <<https://store.usp.org>>. Acesso em: 01 de junho de 2018.

\_\_\_\_\_. **United States Pharmacopeia Edition 41<sup>th</sup>**. v. 4, cap. 621, Rockville. 2018.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Faculdade De Ciências Farmacêuticas De Ribeirão Preto. **e-disciplinas**. Disponível em: <<https://edisciplinas.usp.br>>. Acesso em: 03 abr. 2018.

WANCZINSKI, B. J.; SANCHES, D. S.; WOLF, T. G. Estabilidade de medicamentos. **Revista UNINGÁ**, Maringá, v. 1, n. 12, abr./jun. 2007.

ZHOU, D.; PORTER, W. R.; ZHANG G. G. Z. Drug stability and degradation studies. In: QIU, Y. et al. **Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice**. Londres: Elsevier, 2016. Cap. 5, p. 113-149.