

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA  
INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ**

Igor Silva Rêgo Prado

**ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA OXIDATIVA EM MEDICAMENTOS  
CONTENDO METRONIDAZOL COMERCIALIZADOS NO BRASIL**

Rio de Janeiro

2021

Igor Silva Rêgo Prado

ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA OXIDATIVA EM MEDICAMENTOS  
CONTENDO METRONIDAZOL COMERCIALIZADOS NO BRASIL

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços de Saúde, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista em Vigilância Sanitária.

Tutora: Dra. Mychelle Alves Monteiro

Preceptores: Dr. José Luiz Neves de Aguiar e  
Dra. Soraya de Mendonça Ochs.

Rio de Janeiro

2021

## Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Prado, Igor Silva Rêgo

Estudo de degradação forçada oxidativa em medicamentos contendo metronidazol comercializados no Brasil. / Igor Silva Rêgo Prado. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2021.

68 f. : fig. ; graf. ; tab.

Monografia (Programa de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2021.

Tutora: Dra. Mychelle Alves Monteiro.

Preceptores: Dr. José Luiz Neves de Aguiar e Dra. Soraya de Mendonça Ochs.

1. Degradação Forçada. 2. Vigilância Sanitária. 3. Metronidazol. 4. Produtos de Degradação.

Study of forced oxidative degradation in medications containing metronidazole marketed in Brazil

Igor Silva Rêgo Prado

ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA OXIDATIVA EM MEDICAMENTOS  
CONTENDO METRONIDAZOL COMERCIALIZADOS NO BRASIL

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional.

Aprovado em: \_\_ / \_\_ / \_\_\_\_.

Banca Examinadora

Dr. Armi Wanderley da Nóbrega  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde/FIOCRUZ

Dra. Mychelle Alves Monteiro  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde/FIOCRUZ

Ma. Rosana Gomes Ferreira  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Dr. José Luíz Neves de Aguiar - Preceptor (Suplente)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde/FIOCRUZ

*Aos Amores da minha vida,*

*Gratidão!*

*“O único estado mental que te permitirá atrair coisas melhores é a Gratidão.”*

*Autor desconhecido.*

## AGRADECIMENTOS

A DEUS.

A OXOSSI, senhor da minha vida, por nunca me desamparar e sempre me mostrar os melhores caminhos.

A todos os Orixás que carrego comigo.

A minha doce e amada avó (*in memoriam*) que mesmo no plano espiritual sempre esteve presente comigo.

A minha Rainha, minha mãe, por todo apoio, carinho, amor e dedicação.

Ao meu companheiro Luciano que sempre acreditou mais em mim do que eu mesmo, sempre me impulsionando e comemorando as minhas conquistas.

A minha tutora Mychelle Alves, por ter me recebido de braços abertos. Gratidão pela amizade, cuidado e compreensão.

Ao professor José Luiz, meu preceptor e orientador, pela parceria em realizar esse trabalho e por todos os ensinamentos.

A minha preceptora e orientadora Soraya Ochs, que mesmo em licença maternidade, nunca hesitou em colaborar com este trabalho e pelo carinho que tem por mim.

Aos amigos e a todos os servidores do LMCS, em especial a Patrícia Condé.

Ao Departamento de Química do INCQS, em nome de Adriana Sant'ana e Ana Simões.

A Pós-graduação do INCQS pela honra de ter sido aluno dessa renomada instituição.

## RESUMO

O Estudo de Degradação Forçada em fármacos e medicamentos é um processo que resulta na formação de produtos de degradação quando o insumo farmacêutico ativo isoladamente e na forma farmacêutica são expostos às condições forçadas de estresse mais extremas do que o Estudo de Estabilidade de longa duração. Esse estudo é amparado pela Resolução de Diretoria Colegiada nº 53/2015 da Anvisa, a qual estabelece parâmetros para notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos, devendo, obrigatoriamente, ocorrer em sete condições de degradação. A presença de produtos de degradação em medicamentos acima dos limites aceitáveis pode comprometer a eficácia e segurança do uso do produto. O presente estudo teve como objetivo avaliar o decaimento e a formação de produtos de degradação em medicamentos contendo metronidazol na condição de degradação oxidativa utilizando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% como agente degradante. Medicamentos contendo metronidazol estão presentes na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais do Ministério da Saúde e são disponibilizados pelo SUS. É um fármaco utilizado como antiprotozoário, antimicrobiano e controle da Doença de Chron. Na metodologia deste trabalho foi utilizado um método cromatográfico desenvolvido e validado, onde se avaliou a substância química de referência do metronidazol e 5 medicamentos diferentes. Os resultados mostraram que dentre todos os medicamentos do estudo, o medicamento de referência apresentou maior taxa de degradação em relação ao princípio ativo, enquanto que o segundo medicamento similar analisado apresentou menor taxa. Os produtos de degradação formados no fármaco e nos medicamentos variaram em quantidade e intensidade de sinais, estando presentes no medicamento de referência em maior quantidade e em menor quantidade no segundo medicamento similar em relação aos demais analisados. Os dados desta pesquisa evidenciam a necessidade de se monitorar o decaimento de insumos farmacêuticos ativos em medicamentos quando submetidos ao Estudo de Degradação Forçada e monitorar o perfil químico de cada produto terminado a fim de mitigar riscos sanitários associados aos produtos de degradação.

Palavras-chave: Degradação Forçada. Vigilância Sanitária. Metronidazol. Produtos de Degradação.

## ABSTRACT

The Forced Degradation Study on drugs and medications is a process that results in the formation of degradation products when the active pharmaceutical ingredient alone and in the pharmaceutical form are exposed to forced stress conditions more extreme than the long-term Stability Study. This study is supported by Anvisa's Collegiate Board Resolution nº 53/2015, which establishes parameters for notification, identification and qualification of degradation products in medicines, and must, necessarily, occur in seven conditions of degradation. The presence of degradation products in medications above acceptable limits can compromise the effectiveness and safety of using the product. The present study aimed to evaluate the decay and formation of degradation products in medicines containing metronidazole in the condition of oxidative degradation using H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 15% as a degrading agent. Medicines containing metronidazole are present in the National List of Essential Medicines of the Ministry of Health and are made available by SUS. It is a drug used as an antiprotozoan, antimicrobial and to control Chron's disease. In the methodology of this work, a developed and validated chromatographic method was used, in which the reference chemical substance of metronidazole and 5 different drugs were evaluated. The results showed that among all the drugs in the study, the reference drug had a higher rate of degradation compared to the active ingredient, while the second similar drug analyzed had a lower rate. The degradation products formed in the drug and medicines varied in quantity and intensity of signals, being present in the reference medicine in greater quantity and in less quantity in the second similar medicine in relation to the others analyzed. The data from this research show the need to monitor the decay of active pharmaceutical ingredients in medicines when submitted to the Forced Degradation Study and to monitor the chemical profile of each finished product in order to mitigate the health risks associated with the degradation products.

Keywords: Forced Degradation. Health Surveillance. Metronidazole. Degradation Products.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 -	Relação da dimensão e dos tipos de perfis de degradação .....	24
Figura 2 -	Estrutura química do metronidazol e do anel imidazol .....	30
Figura 3 -	Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Shimadzu .....	40
Figura 4 -	Espectro de absorção molecular no UV (3D) do diluente, do controle da reação (diluente + peróxido) e do material de referência SQR .....	43
Figura 5 -	Espectro de absorção molecular no UV (3D) da amostra de referência do MR, da amostra referência do MG1, da amostra referência do MG2, da amostra referência do MS1 e da amostra referência do MS2 .....	44
Figura 6 -	Cromatogramas do MR com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas .....	45
Figura 7 -	Cromatogramas do MG1 com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas .....	46
Figura 8 -	Cromatogramas do MG2 com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas .....	46
Figura 9 -	Cromatogramas do MS1 com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas .....	47
Figura 10 -	Cromatogramas do MS2 com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas .....	47
Figura 11 -	Cromatogramas da SQR com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas .....	48
Gráfico 1 -	Decaimento do MTZ ao longo do tempo de exposição ao H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> por 286 horas .....	49
Figura 12 -	Cromatograma referente ao controle da reação evidenciando o	

sinal do peróxido de hidrogênio .....	51
Figura 13 - Cromatogramas da (a) amostra referência da SQR e da (b) amostra degradada em 364 horas.....	52
Figura 14 - Cromatogramas da (a) amostra referência do MR da (b) amostra degradada em 364 horas .....	53
Figura 15 - Cromatograma da (a) amostra referência do MG1 da (b) amostra degradada em 364 horas .....	54
Figura 16 - Cromatogramas da (a) amostra referência do MG2 e da (b) amostra degradada em 364 horas .....	55
Figura 17 - Cromatogramas da (a) amostra referência do MS1 e da (b) amostra degradada em 364 horas .....	56
Figura 18 - Cromatograma da (a) amostra referência do MS2 da (b) amostra degradada em 364 horas.....	57

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Condições de estresse para estudo de degradação forçada	29
	.....	
Tabela 2 -	Condições cromatográficas empregadas para análise das amostras do EDF oxidativo	41
	.....	
Tabela 3 -	Decaimento do teor de MTZ ao longo do tempo de exposição ao H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> por 286 horas	48
	.....	
Tabela 4 -	Produtos de degradação formados na SQR e nos medicamentos do estudo após 364 horas de exposição ao agente degradante ....	58

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
EDF	Estudo de Degradação Forçada
EMA	Agência Europeia de Medicamentos
FB	Farmacopeia Brasileira
FDA	Food and Drugs Administration
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
ICH	International Conference on Harmonization
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Lacen	Laboratório Central de Saúde Pública
LCCDMA	Laboratório Central de Controle de Drogas, Medicamentos e Alimentos
MIE	Metodologia Indicativa de Estabilidade
MG1	Medicamento Genérico 1
MG2	Medicamento Genérico 2
MR	Medicamento de Referência
MS1	Medicamento Similar 1
MS2	Medicamento Similar 2
MTZ	Metronidazol
PD	Produtos de Degradação

Ph	Potencial Hidrogeniônico
RENAME	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SNVS	Sistema Nacional de Vigilância Sanitária
SQR	Substância Química de Referência
SUS	Sistema Único de Saúde
USP	Farmacopeia dos Estados Unidos
UV	Ultravioleta
VISA	Vigilância Sanitária
WHO	Organização Mundial da Saúde

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>14</b>
.....		
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>16</b>
<b>2.1</b>	<b>Vigilância Sanitária</b>	<b>16</b>
<b>2.2</b>	<b>Medicamentos</b>	<b>18</b>
<b>2.3</b>	<b>Estudo de Degradação Forçada e Produtos de degradação</b>	<b>21</b>
.....		
2.3.1	Condições para realização dos estudos de degradação forçada	24
2.3.1.1	<i>Condição de degradação termolítica</i>	25
2.3.1.2	<i>Condição de degradação úmida</i>	26
2.3.1.3	<i>Condição de degradação hidrolítica ácida e básica</i>	26
2.3.1.4	<i>Condição de degradação oxidativa</i>	27
2.3.1.5	<i>Condição de degradação fotolítica</i>	28
2.3.1.6	<i>Condição de degradação por íons metálicos</i>	28
<b>2.4</b>	<b>Metronidazol</b>	<b>30</b>
<b>2.5</b>	<b>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência</b>	<b>33</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b>	<b>35</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>36</b>
4.1	Objetivo geral	36
.....		
4.2	Objetivos específicos	36





## 1 INTRODUÇÃO

A Vigilância Sanitária (VISA) é o elo fiscalizatório entre os produtos ofertados no setor saúde e a população consumidora. Entre esses, estão os medicamentos os quais são produtos farmacêuticos tecnicamente elaborados ou obtidos, que apresentam em sua composição um ou mais fármacos e outras substâncias com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnósticos (BRASIL, 2019), com extrema importância econômica e social. Logo, a qualidade das informações sobre esse tipo de produto, utilizada no setor da saúde, bem como as legislações pertinentes são de extrema relevância para a população (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013). O tratamento medicamentoso, além de depender das orientações prescritas pelos profissionais de saúde, é dependente também da segurança, eficácia e qualidade do medicamento administrado (BRASIL, 1998).

As condições de armazenamento de medicamentos podem influenciar direta ou indiretamente na formação de impurezas relacionadas. Impureza é qualquer componente que esteja presente no insumo farmacêutico ativo (IFA) ou no medicamento que não seja a própria substância ativa e nem os excipientes da formulação (BRASIL, 2015b). Podem ser formadas a partir das interações químicas entre o princípio ativo e os excipientes, por isso devem ser investigadas a fim de que estejam dentro dos limites estabelecidos como aceitáveis de acordo com a legislação pertinente, uma vez que podem comprometer a segurança e eficácia no uso destes medicamentos (BAJAJ; SINGLA; SAKHUJA, 2012).

Testes de estresse, definido também como estudo de degradação forçada (EDF), têm fundamental importância no processo de desenvolvimento de fármacos e formulações, pois proporciona o entendimento das propriedades físico-químicas do IFA e do produto acabado (ALSANTE *et al.*, 2014).

Nos ensaios de EDF, tanto o fármaco como o medicamento são expostos a condições extremas de estresse mais severas do que aquelas aplicadas no estudo de estabilidade acelerada. Estas condições podem proporcionar a geração de produtos de degradação (PD) de maior relevância (EMEA, 2003).

Em meio a necessidade de se controlar produtos oriundos da degradação de medicamentos, em 2015 a Anvisa publicou a RDC nº 53 que estabelece os parâmetros para notificação, identificação e qualificação de PD a partir do estudo de degradação forçada (BRASIL, 2015a).

A realização do EDF e sua análise crítica, bem como o desenvolvimento de metodologia para identificação, quantificação e qualificação dos PD são imprescindíveis para as indústrias farmacêuticas, devendo ser apresentados no momento do registro, pós registro e renovação junto a Anvisa (SILVA *et al.*, 2009; BRASIL, 2015a; BRASIL, 2015b).

Medicamentos contendo o princípio ativo metronidazol estão presentes na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (Rename) com a finalidade de atender às necessidades de saúde prioritárias da população brasileira estando em consonâncias com os princípios fundamentais do Sistema Único de Saúde (SUS), a universalidade, a equidade e a integralidade (BRASIL, 2020a). Este medicamento é utilizado na prática clínica como antiprotozoários, antimicrobianos e também no tratamento da Doença de Crohn (RANG; DALE; RITTER, 2016).

Já é conhecida a presença de impurezas oriundas da degradação deste princípio ativo (USP, 2016; EP, 2016) portanto, analisar a presença de PD nos medicamentos de referência, genéricos e similares, componentes da assistência farmacêutica e registrados na Anvisa garante o acesso a produtos de qualidade por toda a população, mitigando riscos à saúde pública (BRASIL, 2020a).

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Vigilância Sanitária

Com pouco mais de 44 anos da sua publicação, a base regulatória da VISA no Brasil, senão a mais importante, é datada de 1976 com a promulgação da Lei nº 6.360. Essa legislação vigente com alterações feitas pela Lei nº 9.787, ampliou escopo de produtos sujeitos à regulação sanitária onde aborda, com detalhes, tópicos importantes relativos ao registro de produtos, bem como licenciamento e/ou autorização de fabricantes de medicamentos e de empresas destinadas à comercialização e manipulação. Essa normativa estabeleceu condições e informações referentes à embalagem, rotulagem, publicidade, além de instituir penalidades e responsabilidades das esferas governamentais em que compete a vigilância. Além disso, inseriu importante requisito que hoje é imprescindível para as empresas farmacêuticas, o controle de qualidade, e juntamente com ele a necessidade de setores independentes dentro das organizações, visando não somente a qualidade final do produto, mas em todo o processo produtivo (BRASIL, 1976).

O conceito de Vigilância Sanitária apresentado com a promulgação da Lei nº 8.080, de 1990, explana em seu Art. 6º, inciso I, um conjunto de ações capazes de eliminar, diminuir ou prevenir riscos à saúde e de intervir nos problemas sanitários decorrentes do meio ambiente, da produção e da circulação de bens, e da prestação de serviços de interesse da saúde (BRASIL, 1990). Esse conjunto de estratégias institucionais, administrativas, programáticas e sociais, são constituídas e direcionadas por políticas públicas as quais se debruçam, a fim de eliminar, mitigar ou prevenir riscos à saúde (OLIVEIRA; CRUZ, 2015).

Na metade final dos anos 90, o país recebeu o destaque na mídia nacional e internacional devido a um expressivo número de eventos negativos relacionados aos produtos e serviços de saúde, os quais marcaram a saúde pública e expuseram a vulnerável legislação sanitária da época (SILVA; COSTA; LUCCHESI, 2018). A criação do Sistema Nacional de Vigilância Sanitária (SNVS) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), pela Lei nº 9.782 de 1999, possibilitou um contínuo avanço nos aspectos estruturais, organizacionais e legais junto a VISA, colocando a

Anvisa como principal instituição pública de importância reguladora vinculada ao Ministério da Saúde (BRASIL, 1976; BRASIL, 1999a).

A criação da Anvisa trouxe certo desconforto, pois acreditava-se que poderia ameaçar a unidade do SUS, visto que o modelo de agência aproximava a VISA dos processos de privatização das atividades de responsabilidade única do Estado. Entretanto, a lei de criação da Anvisa enquadrou a instituição à norma constitucional do SUS (SILVA; COSTA; LUCCHESI, 2018).

Problemas relacionados a qualidade de medicamentos, adulteração de alimentos, contaminação de produtos para a saúde (GEMAL *et al.*, 2016), bem como a propagação de doenças transmissíveis nos grandes centros urbanos, foram alguns dos pontos que impulsionaram as ações da VISA de modo a mitigar os riscos à saúde e reduzir os danos à população. Instrumento de regulação e operacionalização dentro do contexto do SUS, o Pacto pela Saúde em 2006 impulsionou a integração das vigilâncias epidemiológica, ambiental e sanitária, consolidando a VISA como parte integrante do projeto de vigilância em saúde (OLIVEIRA; CRUZ, 2015).

Hoje, a VISA atua de modo a regular e controlar todos os processos que envolvem a produção de bens de consumo, relacionados direta ou indiretamente com a saúde, além de articular ações gerenciais e sanitárias desenvolvidas de forma participativa e democrática, a fim de garantir qualidade de serviços, ambientes e produtos fundamentais à saúde coletiva (OLIVEIRA; CRUZ, 2015).

Desde 2004, com a descentralização das ações de vigilância, bem como a alta demanda em análises de qualidade, o país vem sistematizando a sua rede de laboratório de saúde pública, investindo em modernização para garantir a confiabilidade na qualidade das análises. Com isso, a Rede Nacional de Laboratórios de Vigilância Sanitária passou a compor o Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública no contexto da vigilância em saúde (BRASIL, 2007c). Esses laboratórios estão subdivididos dentro dos níveis federais, estaduais e municipais, onde realizam análises e sugerem medidas de intervenção e controle junto aos órgãos reguladores (LOPES; DE SETA, 2017).

Os laboratórios analíticos no SNVS detêm de uma importância fundamental para as ações fiscalizatórias da VISA, uma vez que contribuem para averiguar agravos à saúde e investigar possíveis desvios de qualidade de produtos através de avaliações analíticas. A constatação de desvios de qualidade após a abertura do

processo administrativo sanitário, tem como consequência para o setor regulado, a correção de irregularidades, através de sanções e penalidades previstas em lei (LOPES; DE SETA, 2017).

No nível municipal, há os laboratórios públicos municipais que por vezes realizam análises mais simples, como a verificação das características físico-químicas de alimentos e padrões de potabilidade da água que é consumida pela população. No nível estadual encontram-se os Laboratórios Centrais de Saúde Pública (Lacen) e no nível federal, o Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), que de forma articulada e integrada, com diferentes estruturas e vinculação institucional, conformam um sistema nacional de serviços do setor saúde dentro do SNVS (LOPES; DE SETA, 2017).

O INCQS foi instituído em 1981 após o encerramento das atividades do antigo Laboratório Central de Controle de Drogas, Medicamentos e Alimentos (LCCDMA). Está ligado administrativamente à Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) e tecnicamente subordinado à Anvisa (BRASIL, 2001; GEMAL *et al.*, 2016). Os serviços realizados pelo instituto vão desde atividades técnico-científicas, como as análises laboratoriais, desenvolvimento de metodologias, assessoria para os laboratórios do SNVS, concepção e distribuição de substâncias químicas de referência e microrganismos de referência, além de realizar atividades legais, como elaboração de normas técnicas, emissão de pareceres, e discussões sobre legislações sanitárias, auxiliando no aprimoramento e elaboração destas (INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, 2021a; INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, 2021b).

## **2.2 Medicamentos**

O polo industrial farmacêutico brasileiro começou a se estabelecer nos anos 90, onde legislações importantes entraram em vigor, como a lei orgânica da saúde, política nacional de medicamentos, lei dos genéricos e, não menos importante, a lei de criação da Anvisa. A partir daí, teve início a reorganização de políticas públicas de saúde, com participação efetiva do movimento sanitário em diferentes níveis de atuação. Essa reorganização trouxe o entendimento de que o medicamento é componente essencial e básico na saúde pública e não um bem de consumo meramente lucrativo (KORNIS; BRAGA, 2008).

Medicamentos são produtos farmacêuticos inovadores com importância inquestionável para a população. Diversas tecnologias de ponta são empregadas com o intuito de se obter cada vez mais produtos de qualidade, com segurança e eficácia comprovadas (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Segundo as atuais legislações que tratam sobre medicamentos, encontramos as seguintes classificações para medicamento: referência, genérico, similar, similar equivalente ao medicamento de referência (intercambiável com o medicamento de referência), medicamento novo e inovador. Antes da vigência da RDC nº 200/2017, cada um desses tipos de medicamentos supracitados eram identificados pelas suas características particulares e testes necessários para fins de registro sanitário. Entretanto, a partir dessa legislação, todos os medicamentos são incluídos sob a mesma ótica legislativa, exigindo testes e documentos essenciais para registro e renovação (BRASIL, 2017a).

De acordo com a RDC nº 200/2017, um medicamento novo é aquele que possui IFA novo no país. Já um medicamento inovador é aquele com inovação incremental, com melhorias em relação a um medicamento já registrado no país. Em outras palavras, para ser um medicamento inovador, é necessário apresentar uma inovação no desenvolvimento de melhorias em relação a um medicamento já registrado. Medicamento de referência é definido como um produto inovador registrado na ANVISA e comercializado no país, com eficácia, segurança e qualidade comprovadas por experimentação cientificamente, e que pode ser apontado pela agência para fins de intercambialidade (BRASIL, 2017a).

Medicamentos genéricos apresentam similitude aos de referência ou inovador que se pretende ser com este intercambiável. A sua produção somente é permitida após expiração ou renúncia de proteção patentária, e são designados pela denominação comum brasileira ou denominação comum internacional, devendo ter eficácia, segurança e qualidade comprovadas. Os similares são aqueles que contém o mesmo, ou os mesmos, IFA com igual concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, podendo ser diferentes nas características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículos. Devem ser identificados por nome comercial ou de marca e são equivalentes ao medicamento registrado na Anvisa (BRASIL, 2017a).

A implantação dos genéricos no Brasil se deu a partir da promulgação da Lei nº 9.787 (BRASIL, 1999a). Denominada de Lei dos Genéricos, essa legislação trouxe consigo a proposta de motivar indústrias farmacêuticas concorrentes, melhorar a qualidade dos medicamentos, reduzir custos das terapias medicamentosas e ser acessível financeiramente para a população de menor poder aquisitivo (ARAÚJO *et al.*, 2010).

O início do século XXI foi marcado pela ampliação acelerada no campo regulatório e, em contrapartida, os anos que se seguiram objetivavam detalhar, aprimorar e harmonizar essas normativas. Em 2003, a publicação da RDC nº 135 estabeleceu alguns tópicos essenciais, como o regulamento técnico, documentação para fins de registro e medidas pós-registro (BRASIL, 2003a). Posteriormente, em 2007, essa normativa foi revogada pela RDC nº 16, que traz consigo critérios para a prescrição e condições para realização da intercambialidade na dispensação pelo profissional farmacêutico (BRASIL, 2003a; BRASIL, 2007a; KORNIS, BRAGA, 2008).

Ainda no campo legislativo, com foco nos medicamentos similares, destacam-se as RDC nº 133 e 134, de 2003, que traziam a obrigatoriedade dos fabricantes nas novas solicitações e renovações de registro, a apresentarem estudos referentes a equivalência farmacêutica e biodisponibilidade relativa ao medicamento de referência que eram dispensados anteriormente. Entretanto, mesmo havendo revogação da RDC nº 133/2003 pela RDC nº 17/2007, ainda não havia possibilidade legal da intercambialidade do medicamento de referência pelo seu similar, por haver indagações a respeito do desempenho das formulações e da biodisponibilidade/bioequivalência (BRASIL, 2003b; BRASIL, 2003c; BRASIL, 2007b).

A possibilidade da intercambialidade de medicamento similar com o seu de referência comparador, surgiu com a publicação da RDC nº 58/2014. Contudo, não há a possibilidade de intercambialidade dos medicamentos similares com outros similares ou genéricos (BRASIL, 2014). Em 2015, a promulgação da Lei nº 13.235, alicerçou legalmente a obrigatoriedade dos medicamentos similares passarem pelos mesmos testes que os genéricos são submetidos para fins de registro e pós-registro (BRASIL, 2015c). Em 2017, a RDC 200 agrupou os medicamentos novos, genéricos e similares com os mesmos critérios exigidos para submissão de registro (BRASIL, 2017a).

O progressivo aperfeiçoamento das legislações sobre medicamentos tem se buscado cada vez mais a harmonização das normativas a fim de disponibilizar no mercado consumidor, produtos com os mesmos padrões de qualidade, segurança e eficácia (ARAÚJO *et al.*, 2010).

### **2.3 Estudo de Degradação Forçada e Produtos de degradação**

O processo produtivo de medicamentos, bem como, o longo período estipulado como prazo de validade destes produtos farmacêuticos acabam por gerar impurezas de degradação ocasionadas por interações químicas as quais modificam a estrutura do fármaco na forma farmacêutica ou dos demais excipientes da formulação. Essas interações que ocorrem geralmente entre o fármaco e os excipientes farmacêuticos com o material de embalagem, por conta do processo de envelhecimento, ou das condições de armazenamento e transporte podem iniciar o estresse do IFA resultando na sua degradação (SMITH; WEBB, 2008; SINGH *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2017).

Impurezas que estão relacionadas ao período de vida de prateleira desses produtos são denominadas de impurezas ou produtos de degradação e devem ser amplamente investigadas a fim de garantir que não excedam os limites aceitáveis comprometendo assim a eficácia e segurança do uso do medicamento (SMITH; WEBB, 2008; SINGH *et al.*, 2013; SINGH *et al.*, 2017). Esses PD gerados podem acarretar ineficácia da terapia medicamentosa e provocar eventos adversos em pacientes, dependendo das suas atividades toxicológicas (MELO, 2012).

Para que seja possível a análise de produtos de degradação em fármacos e medicamentos é necessário que seja realizado o EDF. Trata-se de um processo que envolve a degradação do fármaco e do medicamento em condições mais severas do que as condições estabelecidas no estudo de estabilidade acelerada e tem como objetivo elucidar a via e o mecanismo de degradação; diferenciar os produtos de degradação relacionados ao IFA no medicamento daqueles que porventura possam ser gerados na formulação sem a presença da substância ativa (BRASIL, 2015a; BRASIL, 2015b).

Os testes de estresse são um conjunto de ensaios indicadores de estabilidade, com capacidade de predizer a chance de êxito do produto terminado antes mesmo de ser iniciado o estudo de estabilidade. São importantes para o

planejamento e desenvolvimento de uma forma farmacêutica, visto que, investigar a estabilidade intrínseca de um fármaco contribui para o desenvolvimento de novas formulações utilizando tipos de excipientes farmacêuticos que possam trazer melhorias na integridade do fármaco e do produto terminado (AULTON, 2005; SILVA *et al.*, 2009; BRUMMER, 2011; HOSSAIN, 2013).

A realização antecipada do EDF pode fornecer subsídios para melhoria contínua dos processos produtivos, uma vez que é uma ferramenta que deve ser utilizada para além de se obter um perfil de degradação, deve ser primordial para o desenvolvimento do método indicativo de estabilidade (MIE) (SHINDE *et al.*, 2013; BRASIL, 2015a; BRASIL, 2015b). Ademais, esse estudo é considerado uma ferramenta imprescindível para o conhecimento prévio da estabilidade do medicamento, sendo um componente crítico do processo de desenvolvimento do produto farmacêutico terminado (ALCÂNTARA *et al.*, 2013; BLESSY *et al.*, 2013).

Os PD gerados a partir da exposição do IFA e do medicamento às condições extremas podem ou não apresentar relevância em relação às condições reais de armazenamento do fármaco e do medicamento. Os produtos que são formados sob essas condições são úteis para se estabelecer as possíveis rotas de degradação, desenvolver e validar metodologia analítica seletiva definida como metodologia indicativa de estabilidade (EMEA, 2006; BRASIL, 2015a).

Em um estudo realizado pela primeira vez por Atici e colaboradores (2017), foi desenvolvido e validado um método indicativo de estabilidade, estável, seguro e confiável para amoxicilina e clavulanato de potássio em associação. O método desenvolvido foi capaz de identificar e separar 18 substâncias relacionadas à amoxicilina e 6 substâncias relacionadas ao clavulanato de potássio. Até a data deste trabalho não havia sido descrito na literatura, nenhum método capaz de identificar e separar substâncias relacionadas de ambos fármacos em associação acima descritos.

Galo e colaboradores (2018) desenvolveram e validaram um método indicativo de estabilidade para o fármaco Metronidazol. O método desenvolvido foi capaz de identificar e separar todos os produtos de degradação do Metronidazol, nas setes condições de degradação preconizadas pela RDC nº 53/2015.

Produtos de degradação resultantes do EDF compõem o perfil de degradação observados no IFA e no medicamento quando estes são expostos a determinadas condições extremas de estresse, as quais poderiam antecipar esse conjunto de PD

obtido ao final da vida útil do medicamento (ALCÂNTARA *et al.*, 2013; BLESSY *et al.*, 2013).

De acordo com o guia nº 04 de 2015, publicado pela Anvisa, um perfil de degradação depende tão somente das condições que se expõe o produto, então, um perfil gerado a partir dos ensaios de degradação forçada não apresentará similitude àquele obtido no estudo de estabilidade. Logo, tem-se a necessidade da realização dos experimentos de degradação forçada em diversas condições com a finalidade de gerar todos os produtos que podem aparecer nos estudos de estabilidade (BRASIL, 2015b).

O perfil de degradação real é o de interesse sanitário, obtido após a exposição do insumo farmacêutico ativo ou do produto final à temperatura e umidade estabelecida no estudo de estabilidade de longa duração, pelo período de prazo de validade (BRASIL, 2015b).

Um método que seja indicador de estabilidade para produtos de degradação deverá ser capaz de detectar e quantificar todos os produtos relevantes do perfil de degradação de interesse sanitário. Entretanto, o desenvolvimento e validação de um MIE utilizando apenas amostras do medicamento e do IFA obtidas ao final do estudo de estabilidade de longa duração, é inviável, pois em geral, a taxa de degradação é pequena. Por esse detalhe são possíveis dois tipos de problemas relacionados ao MIE. O primeiro é que, sendo observada rápida diminuição do teor sem a presença de produtos de degradação, pode-se inferir dúvidas sobre uma variação intrínseca da análise, ou, havendo decaimento do IFA, o método não foi capaz de detectar os PD. O segundo problema baseia-se em que, não sendo observada variação de teor, não é possível saber se não houve de fato degradação ou se não ocorreu separação dos picos entre o IFA e seus PD (BRASIL, 2015b).

A partir do exposto, o método de análise da estabilidade do medicamento deverá ser desafiado com um perfil de degradação do EDF, pois de maneira geral apresenta maior quantidade de PD do que o estudo de estabilidade. Devido a esse fato, os fabricantes devem realizar o estudo de estabilidade (de longa duração a 30 °C e acelerada a 40° C) utilizando o MIE desenvolvido no EDF em vez de qualquer outro método (farmacopeico, desenvolvido internamente e etc.), desse modo economizam tempo, custos e minimizam o risco sanitário associado ao aparecimento de um produto de degradação com potencial de inutilizar todo o

projeto de desenvolvimento do medicamento (BRASIL, 2015b; BRASIL, 2016; BRASIL, 2017a).

O perfil gerado a partir do EDF é maior do que o perfil de degradação real (Figura 1). Logo, o perfil de degradação forçada é um perfil potencial, visto que, na prática há a geração de mais PD em comparação com outros gerados a partir do estudo de estabilidade (BRASIL, 2015b). O perfil potencial poderá ser qualitativamente e quantitativamente diferente do perfil real, mas, entende-se que o perfil real é um subconjunto do perfil potencial, ou seja, está contido neste (BRASIL, 2015b). A Figura 1 mostra a relação, os tipos e a dimensão dos perfis de degradação gerados a partir do EDF ou dos estudos de estabilidade.

Figura 1 - Relação da dimensão e dos tipos de perfis de degradação



Fonte: Adaptado de BRASIL, 2015b.

### 2.3.1 Condições para realização dos estudos de degradação forçada

O objetivo dos testes de estresse não é a degradação total da molécula ativa, mas incitar uma degradação capaz de gerar PD e evitar a formação de compostos secundários. Após 10 dias de exposição à condição degradante e sendo observada ausência de degradação do IFA, este é considerado estável para a condição empregada (SILVA *et al.*, 2009).

A proporção do teste de estresse, utilizado para obtenção dos PD, no fármaco e na sua forma farmacêutica dependerá das características intrínsecas, enquanto que, para o produto terminado, o planejamento se baseará nas propriedades do fármaco e dos excipientes utilizados na formulação (MELO, 2012).

Os testes de estresse incluem os efeitos causados pela variação de temperatura, principalmente para compostos termossensíveis; radiação eletromagnética visível e ultravioleta (alguns compostos fotossensíveis degradam diante da exposição direta à luz); umidade (atenção para compostos higroscópicos); interações entre a substância ativa e os excipientes da formulação; hidrólise; oxidação e reações com os materiais de embalagem (RAO; KIRAN; PRASANTHI, 2010).

A RDC nº 53/2015 recomenda que o estudo seja realizado no placebo, no produto e no IFA isoladamente e nas mesmas condições. Além disso, estabelece 07 condições de estresse que devem ser aplicadas a fim de gerar PD e obter o perfil de degradação. O estudo deverá ser realizado no registro do medicamento para todas as concentrações e formas farmacêuticas; nas inclusões de novas concentrações e formas farmacêuticas; e nas alterações pós-registro (BRASIL, 2015a).

Esta resolução define que as condições de estresse devam promover uma degradação superior a 10% e inferior àquela que levaria à degradação completa da amostra, ou seja, com até 90% de decaimento do IFA. Nos casos em que ocorrem degradações abaixo de 10%, considera-se atingido os *end points* das reações, e nos casos de degradação superior a 10%, a formação de PD secundários. Sendo assim, condições mais amenas devem ser adotadas, como a diminuição do tempo de exposição ou da concentração do agente degradante (BRASIL, 2015a; BRASIL, 2015b; BRASIL, 2017a).

Cabe aqui ressaltar que diferentemente de outros guias internacionais como o da *Food and Drugs Administration* (2003), *International Conference on Harmonization* (ICH) Q1(R2) (EMEA, 2003) e WHO (2005), a RDC nº 53/2015 traz como obrigatório a realização do EDF do IFA, placebo e produto nas 7 condições de degradação para todas as formas farmacêuticas. Nas seções seguintes, as sete condições de degradação do EDF serão abordadas nessa ordem: termolítica; úmida; hidrolítica ácida e básica; oxidativa; fotolítica e por íons metálicos.

#### 2.3.1.1 Condição de degradação termolítica

A exposição do IFA e do medicamento a temperaturas elevadas é um procedimento básico para acelerar a decomposição química da molécula ativa e dos excipientes. Essa exposição deve ser o suficiente para induzir a ruptura de uma ligação química no processo chamado de pirólise (RAO; KIRAN; PRASANTHI, 2010). Logo, qualquer mecanismo de reação de degradação incitado por altas temperaturas pode ser elencado a via de degradação termolítica. Além disso, há reações distintas que estão diretamente relacionadas com essa via, como as reações de hidrólise/desidratação, descarboxilação, isomerização e etc (BAERTSCHI; JANSEN, 2005).

Durante o EDF, devem ser utilizadas temperaturas maiores que às utilizadas no estudo de estabilidade acelerada ( $> 40^{\circ}\text{C}$ ), a fim de que sejam promovidas as reações geradoras de PD que poderiam ocorrer após o período de armazenamento, possam ocorrer durante o estudo com o intuito de verificar a manutenção das especificações técnicas e de desempenho do produto durante todo o prazo de validade (FLORENCE; ATTWOOD, 2011).

#### *2.3.1.2 Condição de degradação úmida*

A umidade é um fator ambiental importante que deve ser considerado, pois exerce grande influência na estabilidade de produtos farmacêuticos. A água é um dos principais solventes requeridos em qualquer processo de solubilização, além de ser uma importante catalisadora e um meio natural para reações hidrolíticas. Fármacos que apresentam instabilidade, frente a esta condição, necessitam de modificações durante a formulação e período de armazenamento, pois a eficácia e estabilidade da forma farmacêutica final não devem ser afetadas (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Fármacos higroscópicos são sensíveis à umidade relativa do ar, podendo ser degradados devido a alterações na cinética de degradação. Fármacos não higroscópicos também podem sofrer alterações quando a umidade está associada à temperatura (SILVA et al., 2009; RAO; KIRAN; PRASANTHI, 2010).

#### *2.3.1.3 Condição de degradação hidrolítica ácida e básica*

A degradação decorrente da presença de água é chamada de hidrólise e é a maior contribuinte dentre as outras condições, das reações de degradação. Isso se deve ao fato de estarem presentes em níveis significativos em muitos fármacos, os hidratos, em excipientes farmacêuticos e ambientes. As reações hidrolíticas ocorrem em ambientes aquosos e a sua intensidade dependerá das concentrações de espécies catalíticas, ácidas ou básicas (WATERMAN; ADAMI, 2005).

A avaliação de instabilidade do fármaco e do produto sob condições de hidrólise deve ser feita de maneira a considerar que as reações hidrolíticas são afetadas por uma série de fatores, como o pH, a presença de sais tamponantes, força iônica, solventes e outras substâncias complexantes, surfactantes e os próprios excipientes de uma formulação (BAERTSCHI; JANSEN, 2005). As condições ácidas ou básicas catalisam reações de hidrólise e isso deve ser levado em consideração principalmente quando o fármaco testado apresenta em sua estrutura, grupo funcional ionizável, podendo existir em diferentes estados de ionização (SILVA *et al.*, 2009).

Os testes de estresse na condição de hidrólise ácida utilizam ácido clorídrico como agente degradante e para a condição de hidrólise básica, utilizam hidróxido de sódio (SILVA *et al.*, 2009; BRUMMER, 2011; BRASIL, 2015a).

#### 2.3.1.4 Condição de degradação oxidativa

A via oxidativa é a mais comum e importante em relação a geração de PD em insumos farmacêuticos. O ativo farmacêutico pode apresentar estabilidade frente a condições ideais de armazenamento, entretanto, poderá apresentar sensibilidade à formulação e ao processo fabril onde excipientes contendo impurezas como peróxidos ou metais, induzem reações de degradação (FREED *et al.*, 2008).

As reações de oxidação promovem remoção de átomos eletropositivos, radicais ou elétrons, ou adicionam átomos eletronegativos, ou radicais à estrutura da molécula. A degradação oxidativa é uma das principais causas de instabilidade de fármacos, e essas reações que podem ocorrer em cadeia são provenientes da ação do oxigênio molecular (SILVA *et al.*, 2009; FLORENCE; ATTWOOD, 2011).

O agente oxidante utilizado para gerar a condição estressante empregada no EDF é o peróxido de hidrogênio, e sua concentração varia de 0,1 a 30%. A

exposição a esse degradante deve ocorrer em temperatura de 25°, pH neutro, por um período de no máximo 7 dias (SINGH *et al.*, 2013; RAO *et al.*, 2015).

Outros oxidantes podem ser utilizados, entretanto, o peróxido de hidrogênio é o mais comum empregado no teste devido ao seu baixo custo e maior disponibilidade (SILVA *et al.*, 2009). Outros agentes oxidantes apesar de serem mais específicos que o peróxido de hidrogênio, apresentam maior custo, como os radicais iniciadores AIBN e ACVA, de nomenclatura 2,2-azobis isobutironitrila e ácido azobis ciano valérico, respectivamente (HUYNH-BA, 2008; RAO *et al.*, 2015).

#### 2.3.1.5 Condição de degradação fotolítica

A exposição a diferentes fontes de emissão de energia eletromagnética, pelos medicamentos ocorre desde o processo fabril até os locais onde são administrados (PIECHOCK; THOMA, 2007). O estudo de fotoestabilidade tem como finalidade a demonstração de que o produto não apresenta sensibilidade a energia luminosa, ou seja, que apresenta estabilidade frente a essa condição. É uma importante ferramenta para se verificar a estabilidade de fármacos e formulações (SILVA *et al.*, 2009). Deve ser conduzido com o propósito de quantificar as possíveis reações induzidas pela luz que afetam as formulações farmacêuticas (PIECHOCK; THOMA, 2007).

A degradação pela condição fotolítica é resultante da exposição à energia luminosa, como luz UV ou luz visível. A absorção da energia eletromagnética se dá através de ondas curtas ou longas na faixa do UV, e a exposição pode ter duração de horas ou meses (SINGH; BAKSHI, 2000; BAERTSCHI; JANSEN, 2005). Via de regra, por conseguinte, ocorre clivagem fotolítica, pois a luz UV é altamente energética, seguida de foto oxidação culminando na geração de espécie reativa intermediária que degradam o produto (WATERMAN; ADAMI, 2005; RAO; KIRAN; PRASANTHI, 2010). A fotodegradação de medicamentos pode acarretar perda de insumos farmacêuticos ativos comprometendo a sua eficiência, e gerar subprodutos tóxicos e instáveis (PIECHOCK; THOMA, 2007).

A taxa de fotodegradação apresenta uma relação direta com a quantidade de radiação que incide e é absorvida pelas moléculas. Há casos em que mesmo não ocorrendo absorção da radiação, há algum componente da formulação que viabiliza a absorção dessa energia. (EMEA, 2006).

De acordo com o ICH Q1A(R2) (EMEA, 2003), para o estudo de fotoestabilidade a recomendação é de que a exposição seja de 1,2 milhões de lux hora de luz visível e 200W-hr m<sup>2</sup> de UV.

### 2.3.1.6 Condição de degradação por íons metálicos

A adição de íons metálicos em soluções contendo fármaco é um mecanismo utilizado para se averiguar a sensibilidade à oxidação, uma vez que esse tipo de condição de estresse é uma forma de degradação por oxidação. A partir da RDC nº 53/2015, esse teste passou a ser obrigatório para o EDF e geralmente utilizando soluções contendo metais de transição, Ferro III ou Cu II. (BRASIL, 2015b).

As condições de estresse apresentadas anteriormente compõem as 07 condições que obrigatoriamente devem ser executadas para que se possam formar os PD, de acordo com a legislação vigente, RDC nº 53/2015. Entretanto, a intensidade dessas condições não será igual para todos os IFA e medicamentos, podendo variar dependendo da estrutura química, tipo de medicamentos e condições de armazenamento estipuladas (BRUMMER, 2011).

A literatura atual não define qual a melhor forma para realização do EDF, visto que há divergências principalmente em relação às concentrações dos agentes degradantes e o tempo em que o IFA, placebo e produto devem ficar expostos (BRASIL, 2015b).

A WHO (2005), assim como Brummer (2011) propôs um tipo de delineamento para o EDF, evidenciando as possibilidades nas condições de estresse. O quadro 1 foi adaptado a partir da literatura encontrada a fim de apresentar as condições e o tempo de exposição aos agentes degradantes no fármaco, medicamento e placebo.

Tabela 1 - Condições de estresse para estudo de degradação forçada

Condição de degradação	Agente degradante e sua intensidade	Tempo máximo de exposição do Fármaco	Tempo máximo de exposição do medicamento	Tempo máximo de exposição do placebo
Hidrólise Ácida	HCl [0,01 a 0,1] mol/L	1 a 10 dias	1 a 10 dias	1 a 10 dias
Hidrólise Básica	NaOH [0,01 a 0,1] mol/L	1 a 10 dias	1 a 10 dias	1 a 10 dias
Oxidação	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> [0,1 a 30 %]	Poucas horas a 7	1 a 10 dias	1 a 10 dias

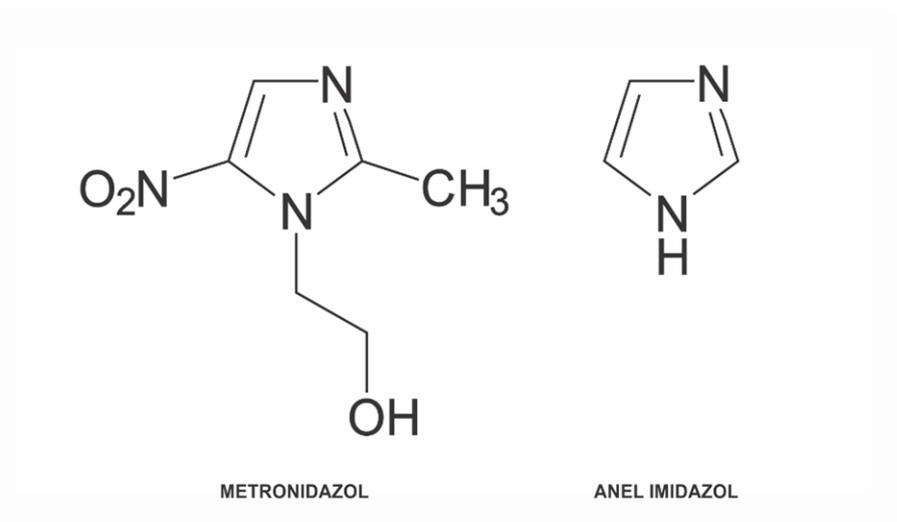
		dias		
Fotólise	1200 Lux h	1 a 10 dias	Acima de 10 dias	Acima de 10 dias
Umidade	75% a 90% UR	Acima de 2 semanas	Acima de 2 semanas	Acima de 2 semanas
Temperatura	10° a 70°C	Acima de 48 horas.	Acima de 2 semanas	Acima de 2 semanas
Íons metálicos	Fe III ou Cu II [0,05] mol/L	1 a 10 dias	1 a 10 dias	1 a 10 dias

Fonte: Adaptado de EMEA, 2003; WHO, 2005; BRUMMER, 2011; BRASIL, 2015b.

## 2.4 Metronidazol

Em 1953, Maeda e colaboradores isolaram, de um estreptomiceto, uma substância chamada azomicina, de nomenclatura 2-nitroimidazol. Três anos depois, Horie conseguiu demonstrar que a azomicina tinha propriedade tricomonocida. Após esses acontecimentos, sínteses químicas e ensaios biológicos para esse grupo de substâncias passou a ser alvo de pesquisadores, dentre essas substâncias sintetizadas estava o metronidazol (GOODMAN; GILMAN, 2012). O metronidazol é um fármaco do grupo dos imidazóis que por sua vez são caracterizados pela presença de um estrutura nuclear cíclica pentagonal com dois átomos de nitrogênio e com nomenclatura química 1-(-hidroxietil) -2-metil-5-nitroimidazol (TAVARES, 1999), conforme figura 2.

Figura 2 - Estrutura química do metronidazol e do anel imidazol



Fonte: O autor, 2021.

De fórmula molecular  $C_6H_9N_3O_3$  e massa molar 171,15g/mol, foi sintetizado pela primeira vez pelo laboratório Rhône-Poulenc em 1957, por Anon. Em 1959, Cosar e Julou descobriram que o metronidazol apresentava atividade contra *Trichomonas spp*, e em 1961, contra *Entamoeba spp* (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2015).

Em 1962, ao verificar que pacientes com tricomoníase e estomatite de Vicent apresentavam cura das duas patologias com o uso do metronidazol, Shinn constatou que este fármaco apresentava atividade contra bactérias anaeróbicas (TAVARES, 1999).

Estudos posteriores verificaram que o metronidazol também apresentava atividade clínica ao protozoário *G. lamblia*. (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2015).

De forma geral, a síntese do metronidazol se dá via rota Debus-Radziszewski, ou utilizando etilenodiamina e ácido acético. A partir daí, segue-se com tratamento utilizando  $CaI_2$  e posterior catalisação utilizando níquel de Raney. O produto formado dessa reação é o 2-metilimidazol que é alvo de nitração dando origem ao 2-metil-4(5) -nitroimidazol, o qual em uma reação de alquilação com óxido de etileno ou 2-cloroetano forma o metronidazol (KRAFT *et al.*, 1989).

Inicialmente o metronidazol foi apresentado como um fármaco anti protozoário, no combate a *E. histolytica*, mostrando efeito sobre os trofozoítos, mas sem ação sobre os cistos (RANG; DALE; RITTER, 2016). É um medicamento de primeira escolha para os casos de amebíase invasiva intestinal ou hepática, e apesar de apresentar falha terapêutica decorrente de resistência microbiana, continua sendo primeira opção de tratamento nos casos de tricomoníase. Já foi amplamente utilizado no tratamento de *Helicobacter pylori*, principal agente causador de gastrite e úlceras (GOODMAN; GILMAN, 2012).

Há outros compostos derivados dos 5-nitroimidazol com eficácia clínica, estruturalmente semelhantes e com atividade análoga ao metronidazol, merecem destaque como o tinidazol, o secnidazol e o ornidazol. O benzoilmetronidazol, apesar de apresentar derivação do 5-nitroimidazol possui atividade contra o *T. cruzi*,

na doença de chagas, diferentemente dos outros (MURRAY; ROSENTHAL; PFALLER, 2015; GOODMAN; GILMAN, 2012).

O metronidazol além de ser um agente antiprotozoário e antimicrobiano diverso (RANG; DALE; RITTER, 2016), pode ser usado para o tratamento da doença de Crohn leve e moderada, com fístulas perianais, visto que, o ativo aparenta ter atividade de imunomodulação. Entretanto, altas dosagens por longos períodos pode ser um fator limitante devido a neurotoxicidade (GOODMAN; GILMAN, 2012).

É um pró fármaco, e seu mecanismo de ação demanda ativação redutora do grupo nitro pelos microrganismos anaeróbios sensíveis, gerando um composto que provoca danos ao DNA das células parasitárias culminando no mecanismo de apoptose. Protozoários amitocondriados como a *T vaginalis*, *E. histolytica* e *G. lamblia*, além de outras bactérias anaeróbias apresentam mecanismos de transporte de elétrons que difere das células aeróbicas. Esses organismos utilizam pequenas proteínas Fe-S, ferredoxinas, com potencial redutor negativo o suficiente para doar elétrons a molécula do metronidazol. A transferência de apenas um elétron é capaz de gerar um radical aniônico nitro (NO<sup>-</sup>) altamente instável que danifica o DNA e possivelmente outras estruturas vitais, levando a destruição dos organismos suscetíveis (GOODMAN; GILMAN, 2012).

No tratamento de infecções pelo microaerófilo *H. pylori*, a ativação do metronidazol se dá através de uma enzima nitroreductase, codificada pelo gene *rdxA*, a qual doa dois elétrons para o radical nitro, produzindo hidroxilamina e outros subprodutos nitrosos altamente citotóxicos levando a quebra da fita de DNA bacteriano (GOODMAN; GILMAN, 2012).

O metronidazol é capaz de sofrer regeneração catalítica. Esse processo devolve ao composto original, os elétrons que foram perdidos do metabólito ativo. A presença de oxigênio em níveis altos diminui a toxicidade celular do metronidazol, pois o oxigênio molecular compete com o fármaco pelos elétrons produzidos no metabolismo energético das células anaeróbicas (GOODMAN; GILMAN, 2012).

O fármaco é completamente absorvido após a ingestão oral, sua concentração plasmática alcança de 8 a 13 microgramas/mL entre 0,25 e 4 horas após uma única dose de 500 mg. As concentrações que mostram eficácia são de 8 microgramas/mL ou mais para os microrganismos sensíveis. A meia-vida plasmática é de 8 horas, e o volume de distribuição é semelhante ao da água corporal total, isso significa dizer que o metronidazol penetra bem nos tecidos e líquidos corporais como

secreções vaginais, líquido seminal, saliva, leite materno e líquido cerebroespinal, exceto placenta. Menos de 20% do fármaco se liga às proteínas plasmáticas, logo, a maior parte está disponível para alcançar o sítio de ação farmacológica (GOODMAN; GILMAN, 2012). Os efeitos adversos relacionados a esse fármaco são leves. Há relatos de alterações menores no trato gastrointestinal, no sistema nervoso central, como tonturas, cefaleia e neuropatias sensitivas. Deve ser evitado o consumo de álcool quando se está em uso desta droga e não deve ser usado por mulheres grávidas (RANG; DALE; RITTER, 2016).

Medicamentos contendo metronidazol como único princípio ativo, de acordo com as listas de medicamentos genéricos e similares e seus respectivos referências, atualizadas, somam 42 apresentações que variam na forma farmacêutica e dosagem (BRASIL, 2019c; BRASIL, 2020b). Estão disponíveis para administração oral, intravenosa, intravaginal e tópica. É um medicamento presente na Renome, elaborado para atender os princípios fundamentais do SUS, a universalidade, a equidade e a integralidade. A confecção desta lista é feita com base nas informações sobre eficácia, efetividade, segurança, custo e disponibilidade, sempre embasada nas melhores evidências científicas disponíveis. Os medicamentos são disponibilizados por meio de políticas públicas e indicados para o tratamento de doenças e agravos que acometem a população brasileira (BRASIL, 2020a).

Por se tratar de uma substância antimicrobiana e presente na lista de substâncias antimicrobianas atualizadas pela RDC nº 174/2017, e conforme a RDC nº 20/2011 que dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianas, de uso sob prescrição, isoladas ou em associação, a dispensação de medicamentos contendo metronidazol só poderá ocorrer mediante a retenção de receita desde que esteja dentro do prazo de validade de 10 dias a contar da data da prescrição (BRASIL, 2017b; BRASIL, 2011).

## **2.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência**

A técnica de cromatografia líquida de alta eficiência é utilizada para identificar e quantificar substância presente em uma mistura. Baseia-se na separação de componentes de uma mistura entre duas fases imiscíveis. O sistema empregado na CLAE compreende uma fase móvel líquida e uma fase estacionária sólida que está no interior de uma estrutura cilíndrica denominada de coluna cromatográfica (HAGE,

CARR, 2012). As interações entre a fase móvel e fase estacionária permitem que haja a separação dos componentes presentes na amostra em análise. O constituinte da mistura que apresentar maior afinidade pelo eluente, ou seja, maior afinidade pela fase móvel levará menos tempo no interior da coluna e logo será detectado quando deixar o interior da coluna cromatográfica. Logo, quanto maior afinidade do constituinte pela fase estacionária, mais tempo este residirá no interior na coluna (USP, 2018).

A técnica de CLAE apresenta mais possibilidades de aplicação quando comparada às outras técnicas cromatográficas, uma vez que possibilita a separação de compostos que dificilmente seriam separados aplicando-se outras técnicas (LINDSAY, 1987).

A RDC nº 53/2015 recomenda que para o desenvolvimento de metodologia indicativa de estabilidade, ou seja, aquela capaz de detectar variação do teor do IFA e identificação de todos os PD gerados a partir do EDF, a técnica utilizada deverá ser por CLAE com detector de arranjo de fotodiodo (DAD). Após o desenvolvimento e validação em DAD, poderá ser aplicado o detector UV (BRASIL, 2015b).

### **3 JUSTIFICATIVA**

A literatura descreve poucos trabalhos sobre métodos indicativos de estabilidade e sobre produtos de degradação forçada oxidativa do MTZ e dos medicamentos que o contém. A RDC nº 53/2015 estabelece que qualquer alteração qualitativa, como mudança de excipientes na formulação, mudança de fabricante do IFA, a empresa deverá apresentar um novo EDF.

Por se tratar de um medicamento disponibilizado pelo SUS, via Rename, faz-se necessário averiguar os produtos de degradação destes medicamentos, visto que a presença destes pode influenciar diretamente na eficácia do tratamento e por vezes prejudicar a saúde do paciente em casos de efeitos toxicológicos.

Justifica-se a importância desse estudo pela necessidade de realizar uma avaliação preliminar do perfil de degradação oxidativo do fármaco a fim de gerar informações dentre os fabricantes, aquele que detém o medicamento com maior estabilidade oxidativa, desse modo, propor essa avaliação como mais uma ferramenta analítica como critérios para a escolha de um medicamento comparador, diminuindo assim o Risco Sanitário.

## **4 OBJETIVOS**

### **4.1 Objetivo Geral**

Avaliar a estabilidade oxidativa de alguns medicamentos do mercado contendo metronidazol (um medicamento de referência, dois medicamentos genéricos e dois medicamentos similares) e a SQR da FB.

### **4.2 Objetivos específicos**

*Parte A) - utilizando coluna C8 e fluxo de 0,3 mL/min*

- Promover degradação oxidativa do MTZ nos 5 medicamentos do estudo e na SQR conforme metodologia desenvolvida por Gallo e colaboradores (2018);
- Monitorar a área do MTZ das amostras do estudo a cada 26 horas durante 286 horas;
- Gerar gráfico de decaimento do MTZ (%) para cada medicamento e da SQR;
- Avaliar os dados obtidos e discutir a estabilidade oxidativa do MTZ em cada medicamento em estudo;
- Estimar as quantidades e intensidades dos produtos de degradação dos medicamentos utilizados e da SQR ao final de 364 horas de monitoramento;

- Estimar um perfil “químico” contendo os produtos de degradação de cada medicamento do estudo;
- Verificar se as degradações da SQR estão presentes nos medicamentos do estudo;
- Avaliar a possibilidade do estabelecimento de uma SQR de degradação oxidativa para o MTZ.

## **5 METODOLOGIA**

### **5.1 Materiais e reagentes**

- Acetato de Amônio - Vetec, lote DCBC3214;
- Ácido Acético Glacial 100% - Merck, lote K51716517;
- Água ultrapurificada - Merck milli-Q;
- Balança Analítica de Precisão Mettler Toledo Modelo: AX205;
- Balões volumétricos de diversas capacidades;
- Becker de diversas capacidades;
- Bomba a vácuo Marconi;
- Coluna cromatográfica C18 (150 x 4,6) mm 5 $\mu$  - ACE HPLC Columns - lote V06-1082;
- Coluna cromatográfica C8 (150x4,6) mm 5 $\mu$  - ACE HPLC Columns - lote V06-1074;
- Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Shimadzu (Controlador de Sistema SCL10Avp, Injetor automático SIL20A);
- Equipamento purificador de água ultrapura Mili Q® Integral 10 Milipore;
- Espátula;
- Espectrofotômetro UV- Visível VARIAN Modelo:Cary 50Conc;

- Filtros de seringa Milipore Millex-HV hidrofílica PVDF 0,45 µm;
- Gral;
- Medicamento de referência (MR) Metronidazol 250 mg;
- Medicamento genérico 1 (MG1) Metronidazol 250 mg;
- Medicamento genérico 2 (MG2) Metronidazol 250 mg;
- Medicamento similar 1 (MS1) Metronidazol 250 mg;
- Medicamento similar 2 (MS2) Metronidazol 250 mg;
- Metanol grau HPLC - Merck, lote M57844578;
- Micropipeta de volumes ajustáveis Eppendorf;
- Navetas de pesagem;
- Peróxido de Hidrogênio 30% - Merck;
- Pinça;
- Pistilo;
- Placa de aquecimento e agitação magnética Nova Técnica Modelo: NT 103;
- Ponteiras;
- Potenciômetro Mettler Toledo;
- Sistema de filtração a vácuo;
- Substância Química de Referência (SQR) de Metronidazol da Farmacopéia Brasileira (FB) - lote W2F01;
- Ultrassom Branson 8510.

## 5.2 Métodos

### 5.2.1 Obtenção dos medicamentos e da SQR

Os medicamentos contendo metronidazol foram obtidos com recursos próprios, sendo todos da mesma apresentação: caixa contendo 20 comprimidos de 250 mg. No total foram obtidas 10 caixas de medicamentos com 20 comprimidos cada, sendo 05 fabricantes diferentes: 02 caixas do medicamento de referência (MR), todas do mesmo lote; 02 caixas do medicamento genérico 1 (MG1), todas do mesmo lote; 02 caixas do medicamento genérico 2 (MG2), todas do mesmo lote; 02 caixas do medicamento similar 1 (MS1), todas do mesmo lote e 02 caixas do medicamento similar 2 (MS2), todas do mesmo lote. Os comprimidos dos MR, MG1 e MS2 apresentavam revestimento de acordo com o informado na caixa e na bula.

Os comprimidos dos medicamentos MG2 e MS1 não são revestidos. A SQR utilizada foi oriunda da Farmacopeia Brasileira disponibilizada pelo INCQS, lote corrente W2F01.

#### 5.2.2 Preparo da solução tampão Acetato de Amônio [10mM]

Para a corrida cromatográfica foi necessário o preparo da solução tampão acetato de amônio na concentração de 10 mM em pH 4.

Inicialmente foi pesado uma massa de acetato de amônia em um becker, com auxílio de espátula. Em seguida, essa massa foi solubilizada com água ultrapura, avolumada em balão volumétrico de 2000 mL e pH ajustado para 4,0 com ácido acético glacial. O ajuste do pH foi feito sob agitação da solução e com o eletrodo do potenciômetro imerso. A solução seguiu para filtração a vácuo em membrana filtrante do tipo PDVF 0,45 µm de porosidade, utilizando o próprio sistema de filtração do laboratório. Por fim, em frascos de vidro com tampa a solução foi armazenada, desgaseificada antes de ser utilizada na corrida cromatográfica e devidamente identificada.

#### 5.2.3 Preparo das amostras: controle da reação, amostra referência e amostra degradada

As amostras foram preparadas utilizando 10 comprimidos de cada medicamento, separadamente. Os comprimidos foram pesados previamente em balança analítica de precisão da marca Mettler Toledo, modelo AX205 e suas massas foram registradas para que pudesse ser feito o cálculo do peso médio. Após essa etapa, os comprimidos foram pulverizados em gral e pistilo de porcelana e o pó resultante foi armazenado em frasco âmbar com tampa e devidamente identificado com o código do medicamento e valor do peso médio.

Para o preparo das soluções estoques, cada medicamento e SQR foram pesados distintamente, num total de 4 pesagens: 2 pesagens para ser o material de referência (sem agente degradante), 2 pesagens para ser o material degradado (com o agente degradante). As amostras foram pesadas de modo a se obter uma massa correspondente a 25 mg de metronidazol, adicionadas cada uma em balão volumétrico calibrado de 25 mL e solubilizadas em diluente preparado com água e

metanol na proporção 9:1. A concentração teórica final das soluções de estoque foi de 1mg/ml.

Após o preparo das soluções de estoque [1mg/ml] de cada medicamento e SQR, duas alíquotas de 5 ml foram transferidas para dois balões volumétricos de 10 ml calibrado, separadamente. Cada medicamento e SQR tiveram duas alíquotas retiradas da solução estoque para preparo das soluções de trabalho: um com 5mL da solução estoque e avolumado com diluente, e a outra, 5mL da solução estoque avolumado (5ml aproximadamente) com solução de 15% de peróxido de hidrogênio na concentração final. As concentrações teóricas das soluções de trabalho foram de 0,5 mg/ml. Para cada medicamento e SQR foi preparado amostra referência em duplicata e amostra de degradação em duplicata.

As amostras referências continham apenas o insumo farmacêutico ativo, excipientes (para os medicamentos) e o diluente (água e metanol, 9:1), e as amostras de degradação continham o princípio ativo solubilizado em diluente e o agente degradante.

O controle da reação foi preparado com 5 ml do diluente + 5 mL de peróxido de hidrogênio a 15%. O período de exposição das amostras ao degradante foi de 286 horas.

#### 5.2.4 Análise das amostras referências e degradadas por CLAE

Cada amostra de referência e degradada foi injetada 2 vezes, o controle da reação e o branco (peróxido de hidrogênio) foram injetados apenas uma vez. As análises de decaimento do teor de metronidazol, bem como, a identificação dos produtos de degradação foram realizadas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) UV/DAD (figura 3) empregando o método cromatográfico descrito por Gallo e colaboradores (2018), previamente validado, utilizando na parte A do estudo uma coluna cromatográfica C8, e na parte B, uma coluna C18 com iguais dimensões e mesmo fabricante. O método utilizou os seguintes solventes: solução tampão de acetato de amônio na concentração de 10 mM e pH 4 (solvente A) e metanol (solvente B), em gradiente. O volume de injeção foi de 10 µl das soluções contendo metronidazol na concentração de 0,5 mg/ml em temperatura de 35 °C. A leitura dos picos foi feita em comprimento de onda de 315 nm correspondente ao espectro de absorção do IFA MTZ.

Figura 3 - Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência Shimadzu



Fonte: O autor, 2020.

O quadro 2 apresenta os gradientes do método utilizado para análise das amostras do EDF.

Tabela 2 - Condições cromatográficas empregadas para análise das amostras do EDF oxidativo

Tempo (min)	%Tampão Acetato de amônia [10 mM] ph 4,0 (Solvente A)	%Metanol (Solvente B)	Fluxo (mL/ min)
0,01	95	5	0,3
3,1	95	5	
11,70	91	9	
11,80	98	2	
13,90	98	2	
14,00	91	9	
18,00	70	30	
24,00	70	30	
24,50	95	5	
40,00	95	5	

**Parte B - Coluna C18**

0,01	95	5
------	----	---

3,1	95	5	0,5
11,70	91	9	
11,80	98	2	
13,90	98	2	
14,00	91	9	
18,00	70	30	
24,00	70	30	
24,50	95	5	
40,00	95	5	

---

Fonte: Adaptado de GALLO *et al.*, 2018.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 6.1 Parte A do Estudo: Monitoramento por 286 horas do decaimento do PA Metronidazol (MTZ) promovida pela degradação oxidativa das amostras em estudo

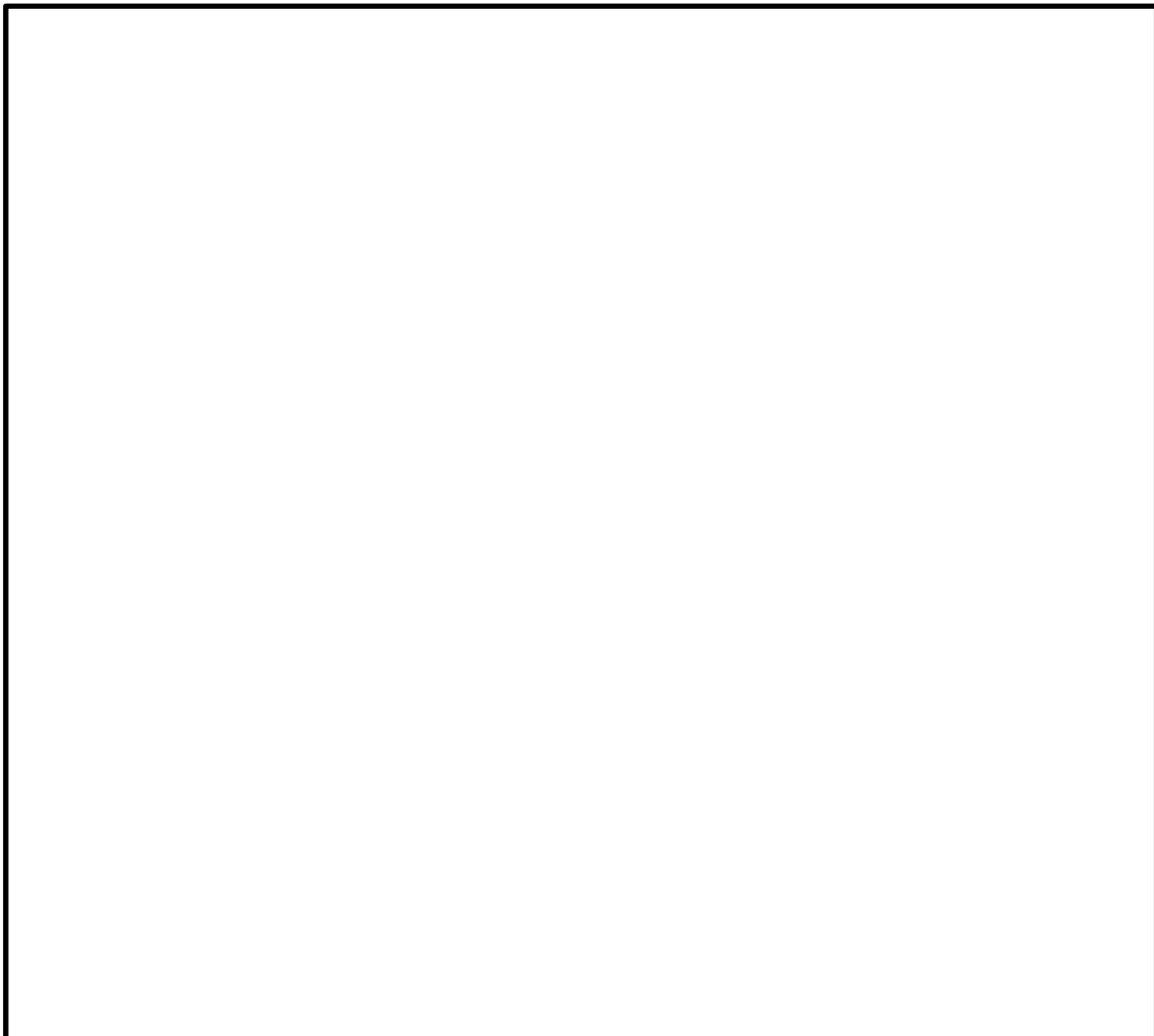
#### 6.1.1 Identificação do IFA Metronidazol (MTZ) nos medicamentos em estudo

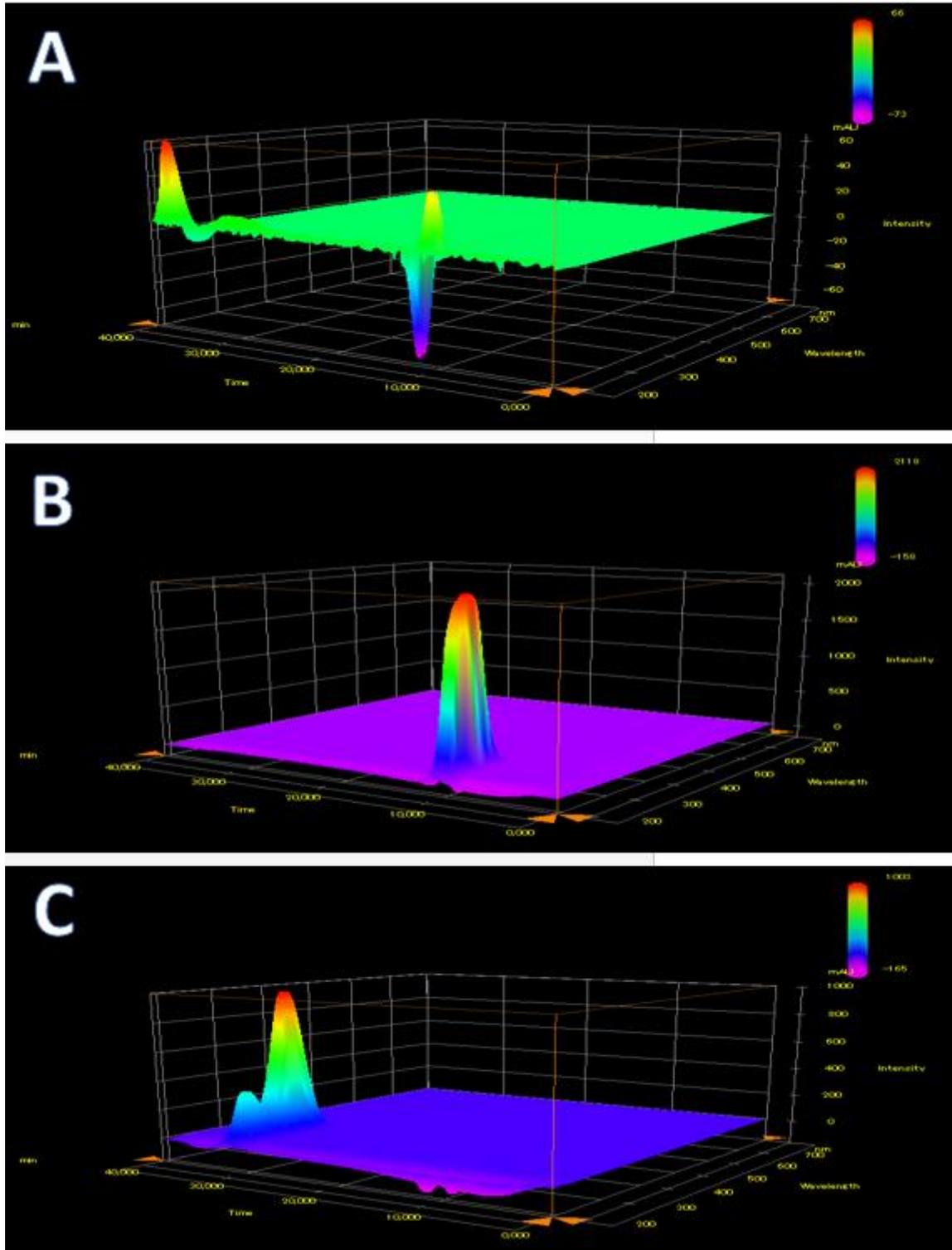
Após a realização das análises utilizando o Método Indicativo de Estabilidade (MIE) por CLAE/UV(DAD) conforme Método 1 desenvolvido por Gallo e colaboradores (2018) e posterior processamento dos resultados encontrados foi possível identificar o sinal do MTZ.

Para a identificação do sinal correspondente ao MTZ, foram analisados os cromatogramas representados na Figura 4 referentes ao diluente (A), ao controle da reação (B), ao SQR (C) e as amostras de referência de cada medicamento (Figuras 5 A,B,C,D e E). Verificou-se a presença de um sinal no tempo de retenção em torno de 32,6 minutos em todos os cromatogramas das amostras, esse sinal é compatível com o sinal no mesmo tempo de retenção do cromatograma da SQR Metronidazol.

Foi possível verificar também que nenhum sinal proveniente do diluente ou do controle da reação (diluente + peróxido) interferiu no sinal correspondente ao provável MTZ nos cromatogramas das amostras. Com base nos espectros de varredura de absorção molecular na região Ultravioleta (UV, 3D) extraído no sinal referente ao provável MTZ (em 32,6 min) dos cromatogramas das amostras e do SQR foi possível verificar uma satisfatória similaridade indicando a presença do MTZ em todos os medicamentos. Através do espectro UV (3D), verificou-se também a ausência de sinais incomuns, sugerindo a satisfatória estabilidade inicial do medicamento, fato esse importante para o que se propõe o presente estudo.

Figura 4 - Espectro de absorção molecular no UV (3D) do diluente, do controle da reação (diluente + peróxido) e do material de referência SQR

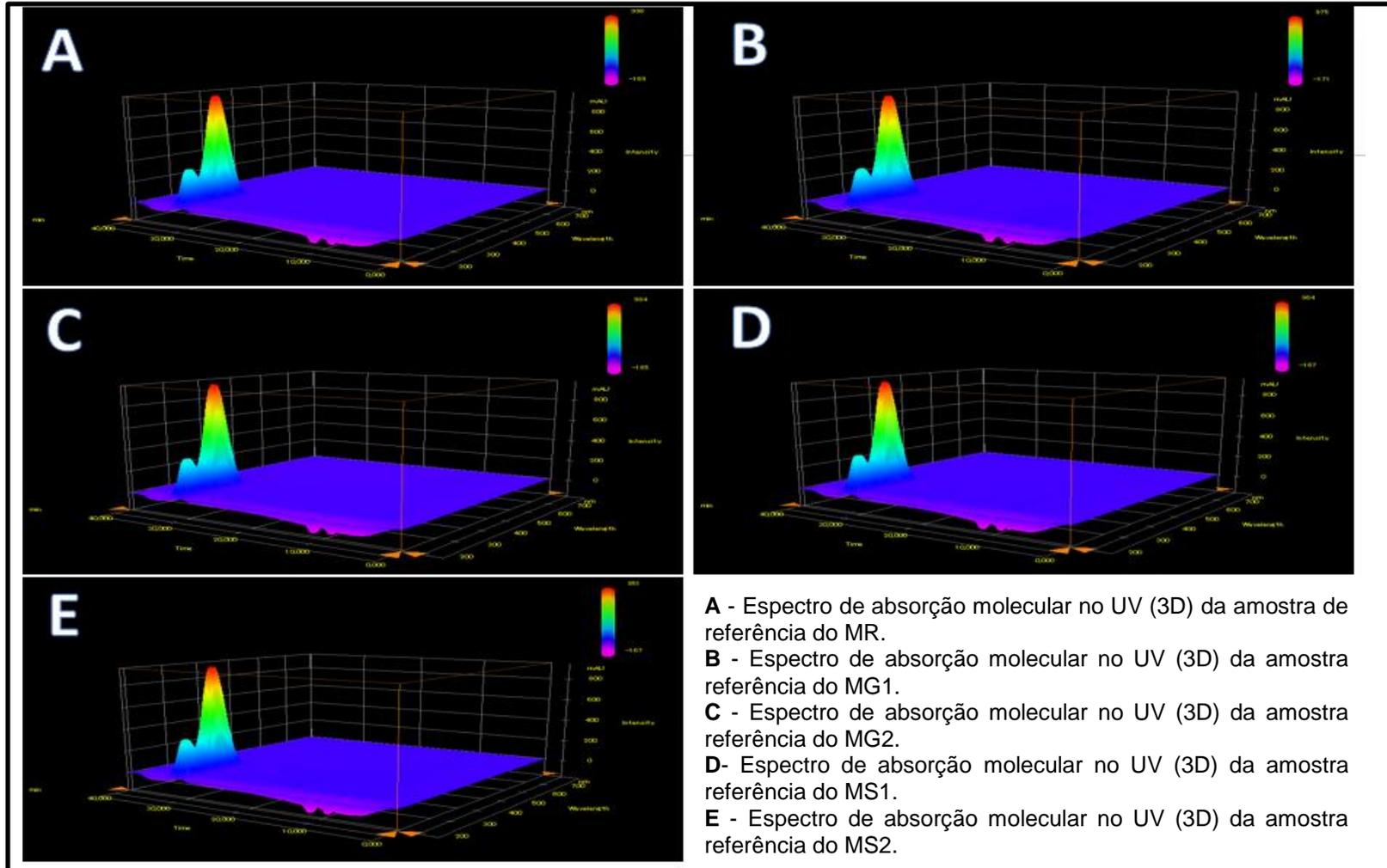




A - Espectro de absorção molecular no UV (3D) do diluente.  
 B - Espectro de absorção molecular no UV (3D) do controle da reação (diluente + peróxido).  
 C - Espectro de absorção molecular no UV (3D) do material de referência SQR

Fonte: O autor, 2020.

Figura 5 - Espectro de absorção molecular no UV (3D) da amostra de referência do MR, da amostra referência do MG1, da amostra referência do MG2, da amostra referência do MS1 e da amostra referência do MS2



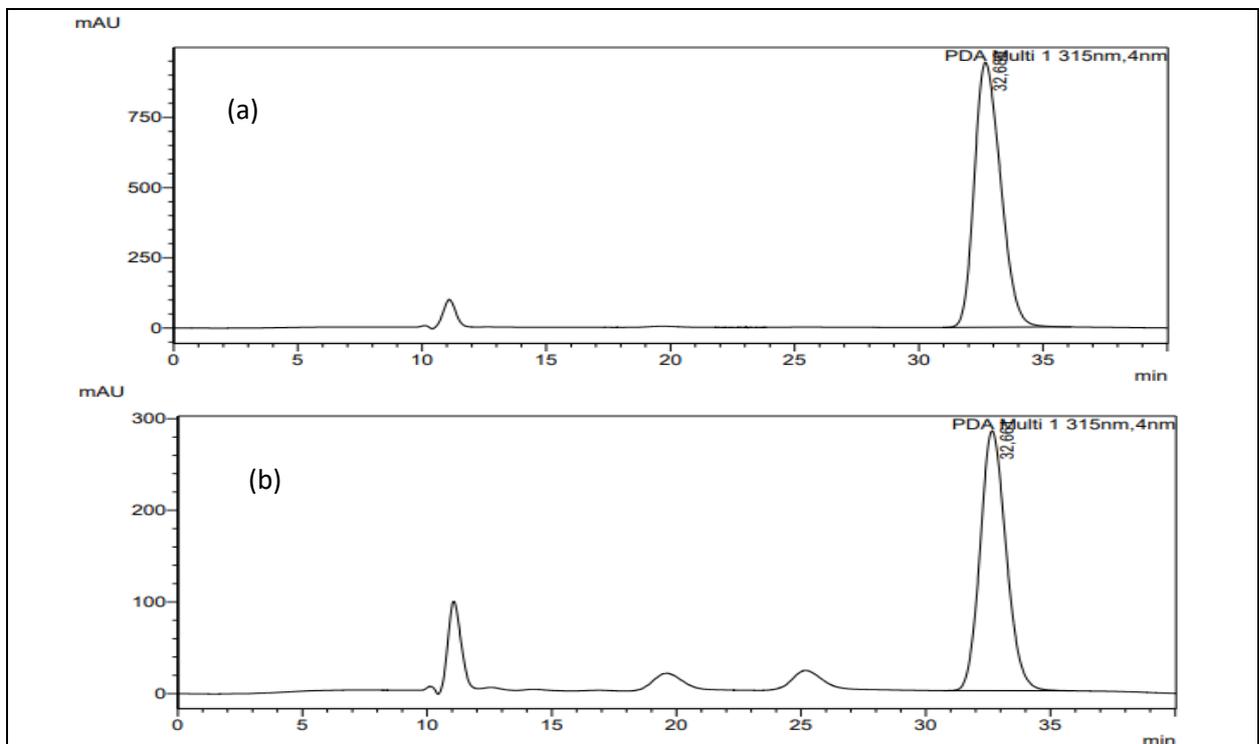
Fonte: O autor, 2020.

A partir dos expostos, infere-se que a metodologia utilizada foi capaz de identificar os sinais correspondentes ao IFA em todos os medicamentos participantes do estudo.

#### 6.1.2 Monitoramento a cada ciclo de 26 horas do decaimento do metronidazol nas amostras em estudo por 286 horas

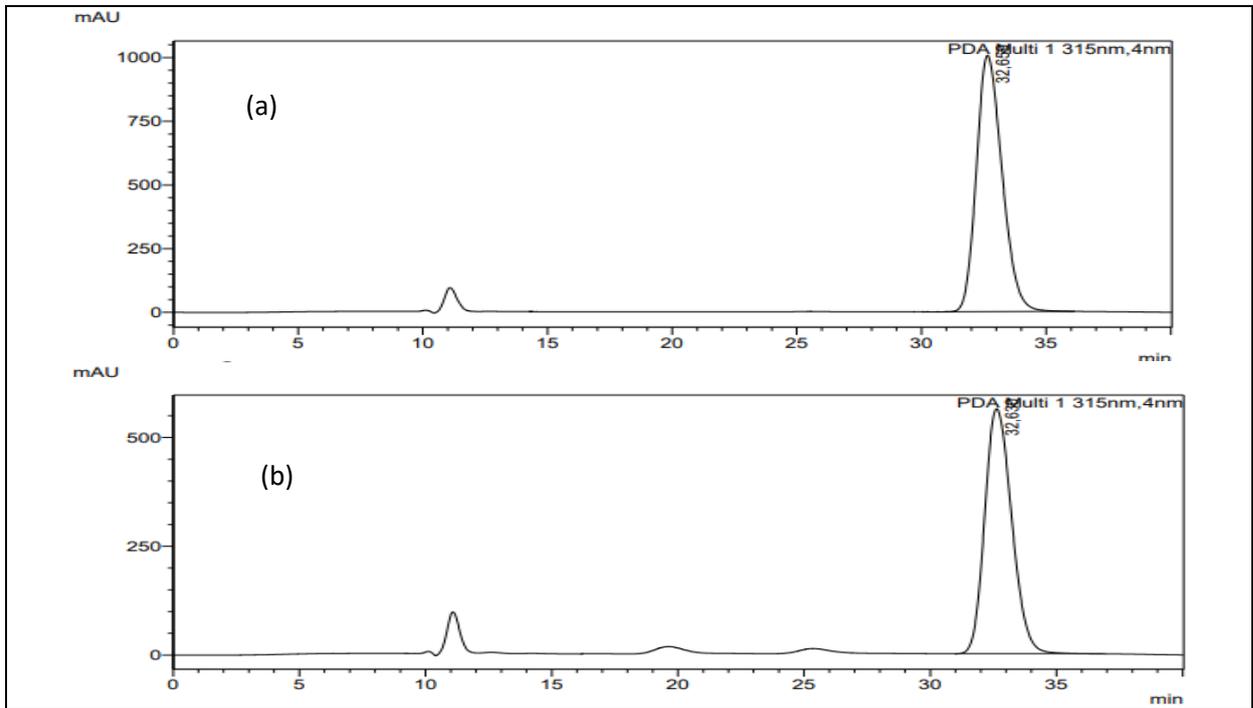
Após a realização das análises por CLAE/UV(DAD) conforme Método 1 e posterior processamento dos resultados encontrados, pode-se verificar que em todos os medicamentos utilizados no estudo (Referência, Genérico 1, Genérico 2, Similar 1, Similar 2 e a SQR) houve degradação do metronidazol. As Figuras 06 a 11 abaixo mostram exemplos dos cromatogramas obtidos após 286 horas de exposição ao agente degradante.

Figura 6 - Cromatogramas do MR com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas



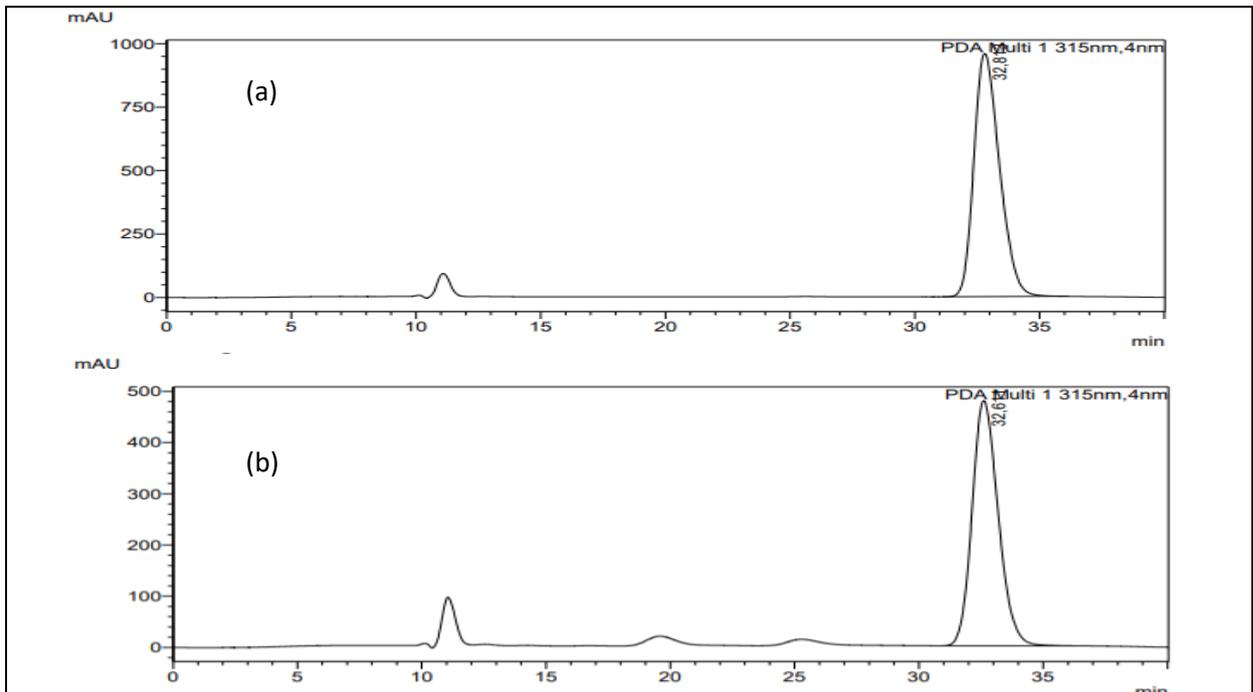
Fonte: O autor, 2021.

Figura 7 - Cromatogramas do MG1 com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas



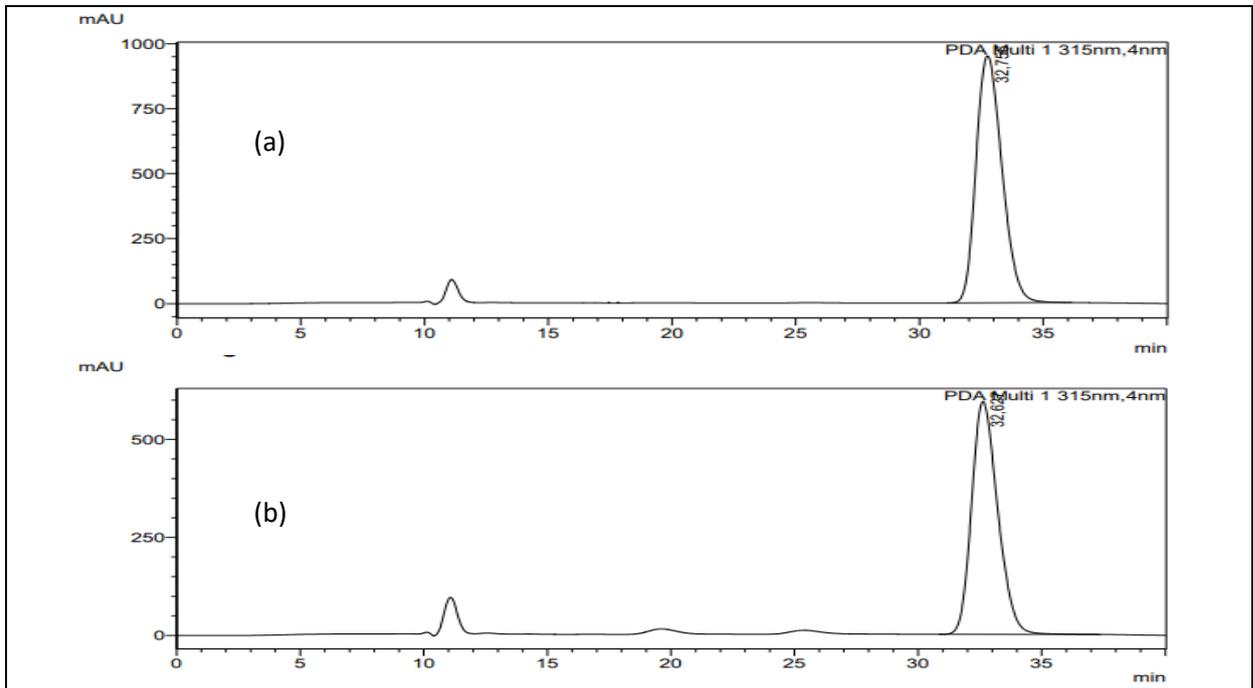
Fonte: O autor, 2021.

Figura 8 - Cromatogramas do MG2 com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas



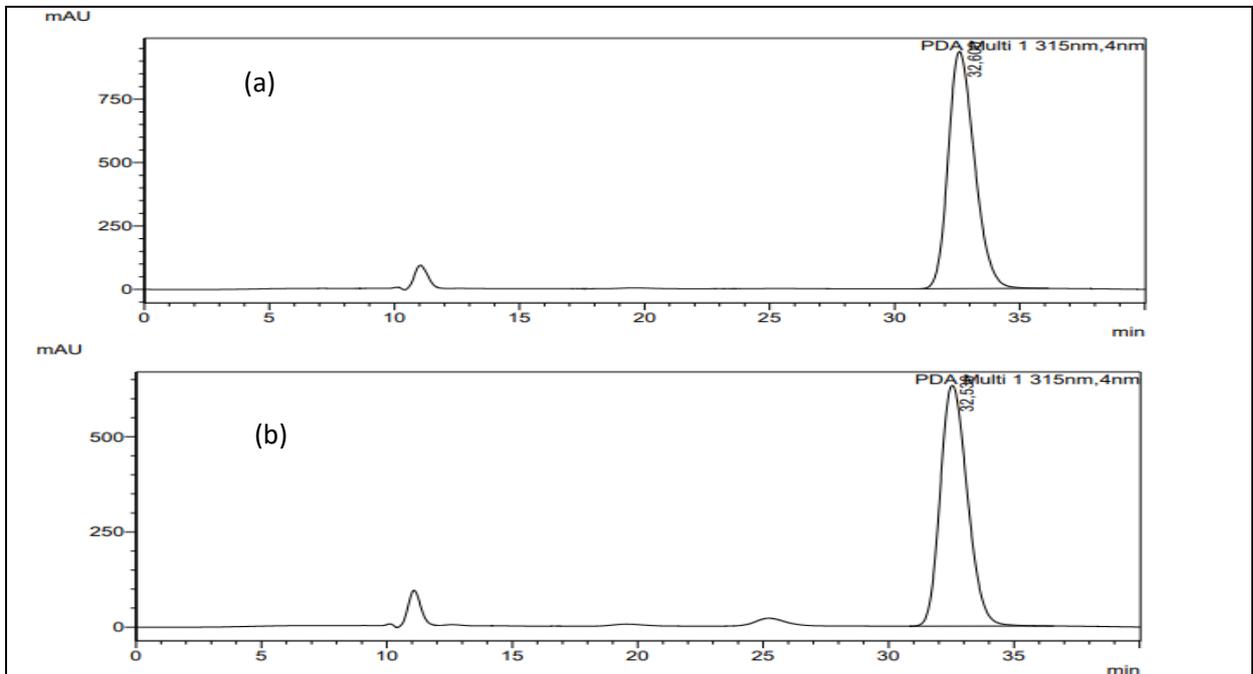
Fonte: O autor, 2021.

Figura 9 - Cromatogramas do MS1 com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas



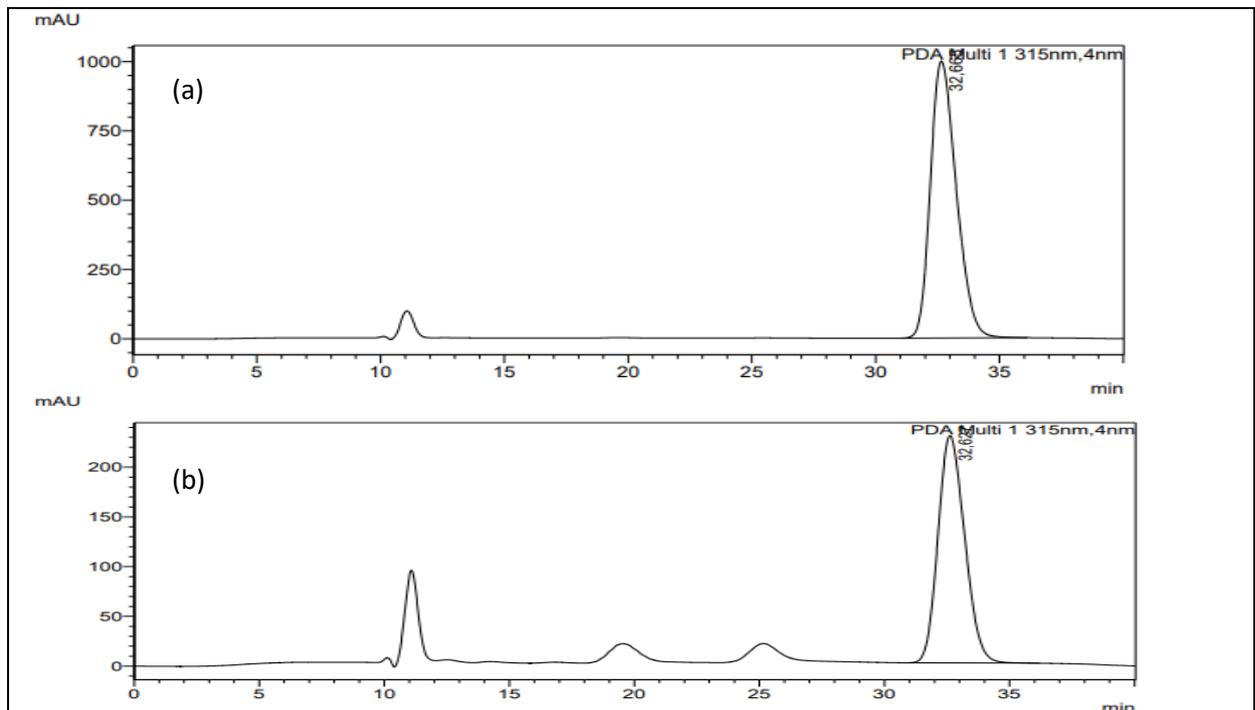
Fonte: O autor, 2021.

Figura 10 - Cromatogramas do MS2 com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas



Fonte: O autor, 2021.

Figura 11 - Cromatogramas da SQR com agente degradante no (a) tempo inicial e (b) após 286 horas



Fonte: O autor,2021.

Após o monitoramento das 286 horas do estudo de degradação de cada medicamento, a área do MTZ restante em cada medicamento foi comparada a área do MTZ obtida no material de referência (sem agente degradante). Observou-se os seguintes teores de MTZ ao final das 286 horas (Tabela 3): o MR apresentou teor de degradação 31,9%; o MG1 apresentou teor de 48,3%; MG2 de 44,5 %; o MS1 apresentou teor de 62,1%; o MS2 apresentou teor de 61,3% e a SQR apresentou teor de 17,7%.

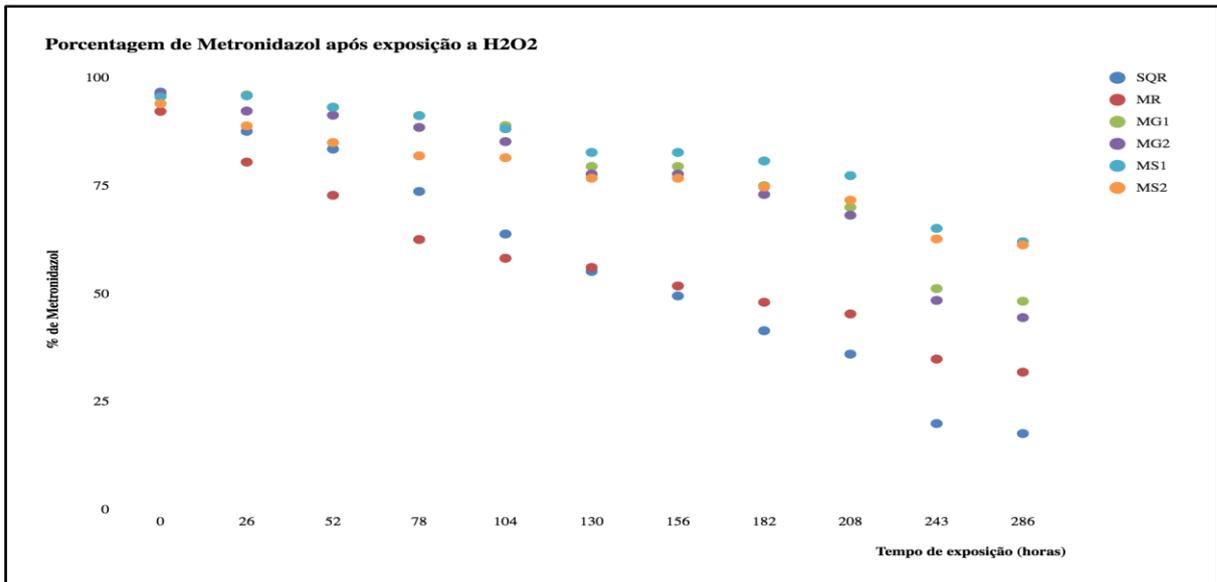
Tabela 3 - Decaimento do teor de MTZ ao longo do tempo de exposição ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por 286 horas

% MTZ	Tempo exposição H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> (horas) – média										
	0	26	52	78	104	130	156	182	208	243	286
SQR	96,7	87,6	83,5	73,7	63,9	55,2	49,5	41,5	36,1	20,0	17,7
MR	92,2	80,5	72,8	62,6	58,2	56,1	51,8	48,1	45,4	34,9	31,9
MG1	96,2	96,1	93,2	91,3	88,9	79,5	79,5	75,0	70,0	51,2	48,3
MG2	96,3	92,3	91,3	88,5	85,2	77,7	77,7	73,0	68,2	48,5	44,5
MS1	95,6	95,8	93,2	91,2	88,2	82,7	82,7	80,7	77,4	65,2	62,1
MS2	94,0	88,9	85,0	81,9	81,5	76,8	76,8	74,7	71,7	62,7	61,3

Fonte: O autor, 2020.

Com base na Tabela 3 foi possível elaborar um gráfico mostrando uma tendência de degradação oxidativa do MTZ para cada medicamento em estudo, inclusive da SQR.

Gráfico 1 - Decaimento do MTZ ao longo do tempo de exposição ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> por 286 horas



Fonte: O autor, 2020.

Com base nos dados obtidos da degradação do ativo, percebe-se que MTZ presente no MR sofreu maior degradação em relação aos outros medicamentos participantes do estudo. Outra informação importante é que a degradação do SQR foi maior, pois não apresenta excipientes que proporcionam proteção ao IFA.

Analisando os excipientes das formulações dos medicamentos envolvidos no estudo, observa-se que todos apresentam os excipientes povidona e crospovidona. Em um estudo realizado por Hartauer e colaboradores (2000), a partir da exposição do cloridrato de raloxifeno a peróxidos, observou-se que a quantidade de peróxidos, que podem estar presentes na crospovidona e povidona, está diretamente relacionada à quantidade de produtos de degradação que são gerados.

Além dos produtos de degradação gerados a partir da interação entre o MTZ e o peróxido, deve ser levado em consideração a presença destes dois excipientes nas formulações, visto que podem estar associados a uma maior degradação do ativo farmacêutico.

O estearato de magnésio é outro importante excipiente farmacêutico que se faz presente nas formulações dos medicamentos do estudo. Amostras comerciais deste excipiente apresentam um percentual de impurezas de até 50%, por se tratar de uma mistura de ácidos graxos e sais, como afirma Bruni e colaboradores (2009). Tibola (2009), afirma que a dificuldade de padronização desses excipientes contribui para falta de homogeneidade das matérias-primas e, por conseguinte, interações com outros fármacos, podendo gerar produtos de degradação.

Kumar e colaboradores (2009), alerta para a decomposição química do IFA de atenolol devido às interações químicas com excipientes que podem aumentar a decomposição do ativo cerca de 3% ou mais nas formulações que apresentam amidoglicolato de sódio e a celulose microcristalina. Essa última se faz presente nas formulações testadas neste trabalho, entretanto, ainda não há estudos avaliando a interação da celulose microcristalina e o MTZ para averiguar se há relação com o aumento da degradação.

Outro aspecto importante observado é que a quantidade de excipientes varia entre as formulações. O medicamento de referência totaliza 6 excipientes, já as formulações dos genéricos 1 e 2, totalizam 7 e 3 excipientes respectivamente. As formulações dos medicamentos similares 1 e 2 contabilizam um total de 7 e 12 excipientes, respectivamente. A quantidade e talvez a característica dos excipientes presentes no MS2 parece ter influenciado na menor degradação do ativo, em relação aos outros medicamentos e formação de um número menor de PD, quando comparado com os demais. Entretanto, mais estudos são necessários para averiguar se os excipientes interferem na formação dos produtos de degradação.

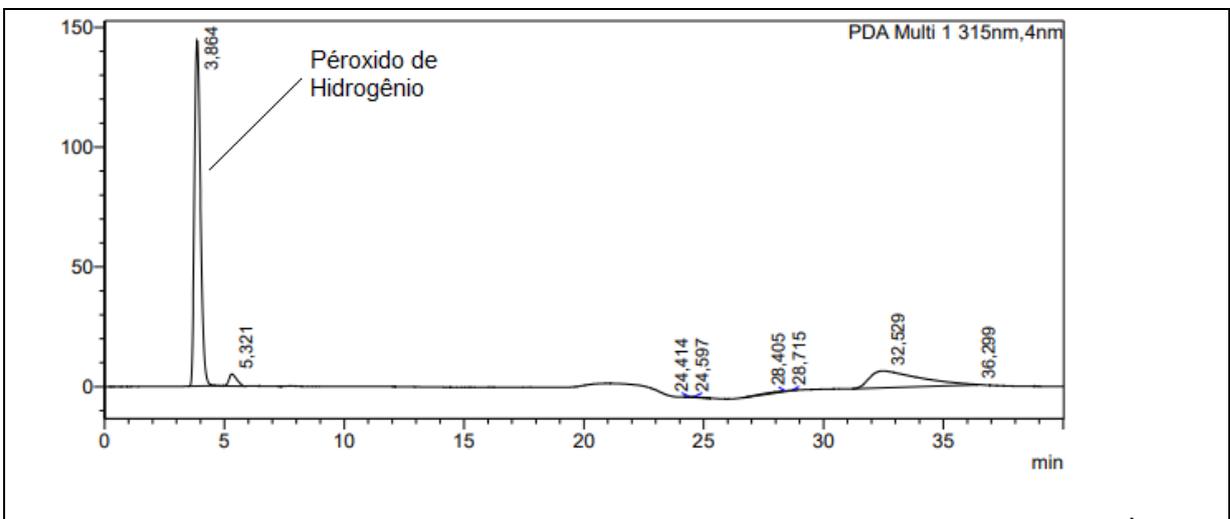
## **6.2 Parte B do Estudo: quantificação dos produtos de degradação majoritários nos medicamentos e na SQR após o período de 364 horas**

Para verificar a quantidade e intensidade dos produtos de degradação gerados pela exposição dos medicamentos e da SQR ao agente degradante, o método utilizado precisou ser modificado a fim de melhorar a separação dos sinais referentes aos PD, conforme o método 2. A mudança em relação ao método 1 foi a troca da coluna (C8 para C18) para melhorar a separação dos PD, entretanto, a retenção ficou muito alta necessitando de uma mudança permitida no fluxo (0,3 mL/min para 0,5 mL/min) para diminuir o tempo de retenção para 40 minutos de

corrida. Essa mudança foi necessária, pois a coluna preconizada (C8) se esgotou quanto a sua eficiência devido ao intenso uso em trabalho semelhante anteriormente realizado e não havia outra de mesma referência para reposição. Além desse fato, não foi possível testar colunas C8 de outros fabricantes para reposição, pois apesar da Parte A do trabalho ter sido concluída satisfatoriamente (monitoramento do decaimento do MTZ no tempo inicial e após as 286 horas), a degradação continuou, sendo necessário colocar um coluna o mais breve possível para que aumentasse o poder de separação (resolução) entre os produtos de degradação antes que houvesse a degradação total do MTZ. Portanto, por esse fato, optou-se imediatamente por uma coluna C18 das mesmas dimensões e do mesmo fabricante da coluna inicial que tínhamos à disposição no laboratório. Essa mudança permitiu a separação mais adequada dos produtos de degradação. Os perfis químicos obtidos se assemelham com os perfis obtidos em trabalho anterior, ratificando a necessidade da mudança.

A partir das análises dos cromatogramas obtidos das amostras de referência dos medicamentos e da SQR, das amostras degradadas ao final do período de exposição, bem como dos cromatogramas das amostras de controle da reação e diluente, os sinais mais significativos (visualmente) dos produtos de degradação foram selecionados e numerados, para essa seleção foram desconsiderados todos os sinais provenientes do cromatograma do controle da reação (Figura 12).

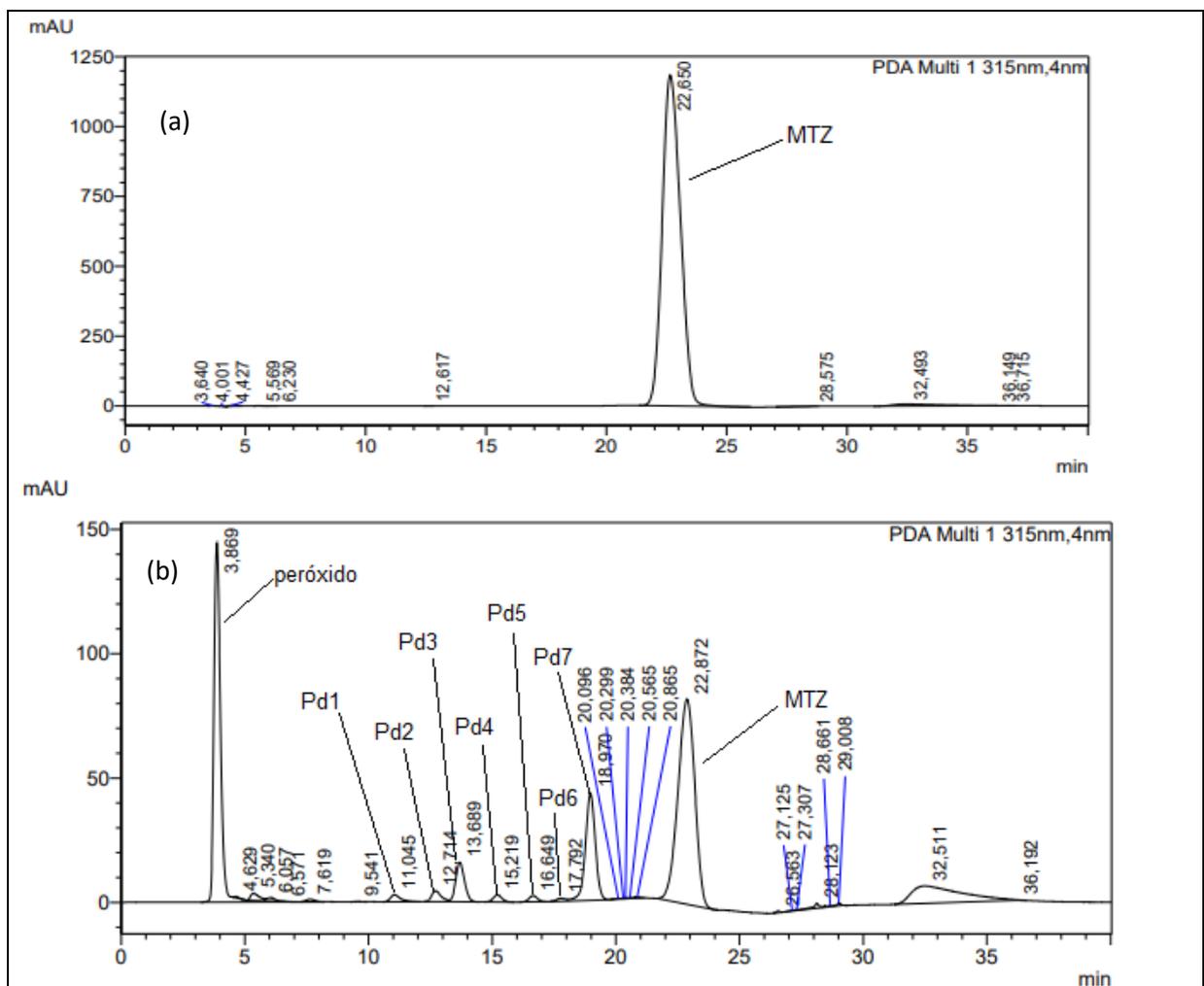
Figura 12 - Cromatograma referente ao controle da reação evidenciando o sinal do peróxido de hidrogênio



Fonte: O autor, 2021.

No cromatograma a SQR degradada apresentou sete sinais visivelmente significativos ao final do período de 364 horas de exposição ao agente degradante. Esses sinais foram identificados como sendo produtos de degradação, uma vez que estão ausentes no cromatograma da amostra de referência da SQR e no controle de reação (Figura 13). Os sinais selecionados foram numerados de Pd1, Pd2, Pd3, Pd4, Pd5, Pd6 e Pd7.

Figura 13 - Cromatogramas da (a) amostra referência da SQR e da (b) amostra degradada em 364 horas

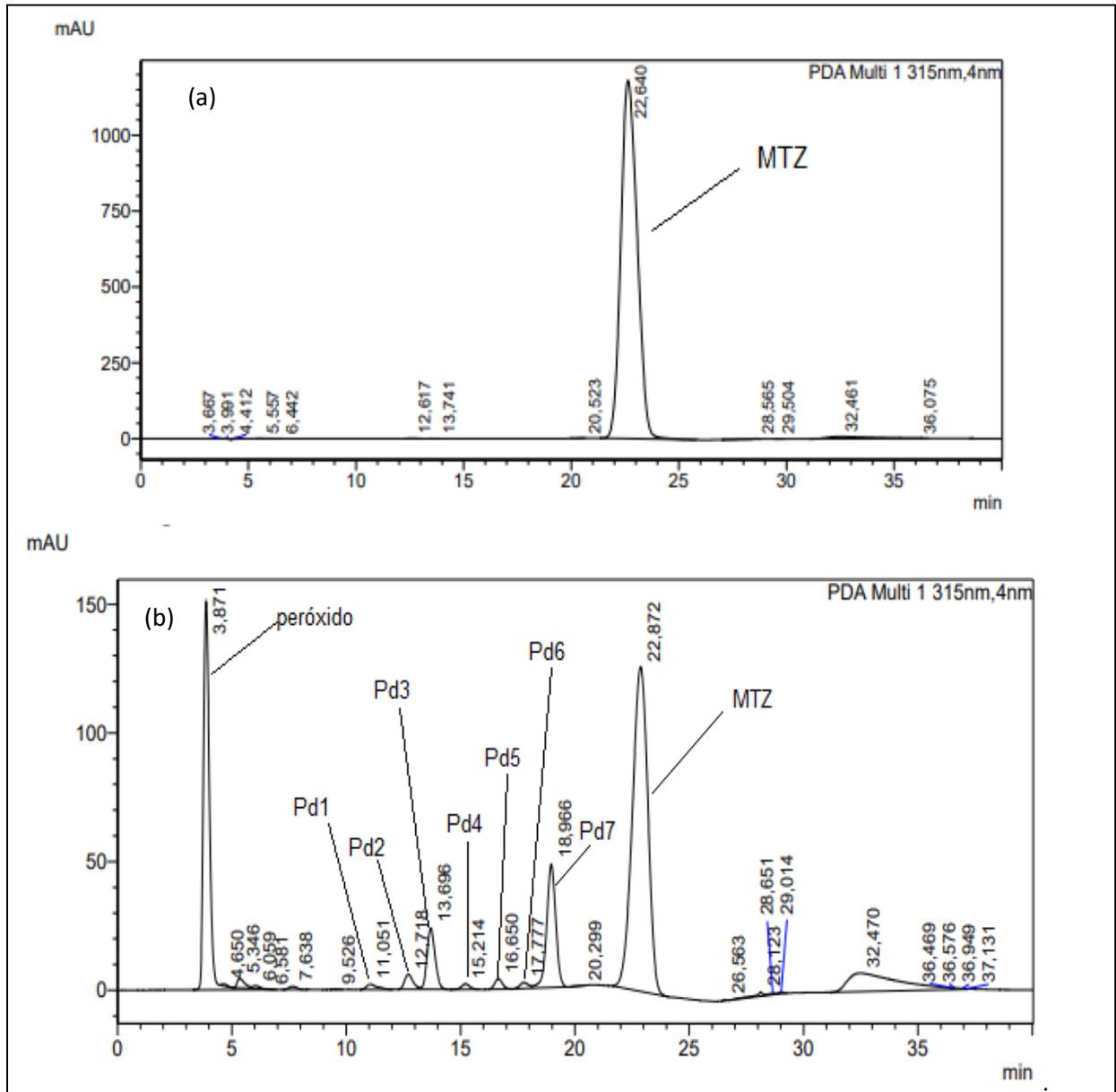


Fonte: O autor, 2021.

O cromatograma do MR degradado apresentou 7 sinais visivelmente significativos que foram selecionados e numerados (Figura 14). Cabe ressaltar que estes produtos da degradação apresentaram tempo de retenção semelhante àqueles identificados na amostra de degradação da SQR. Aparentemente, o perfil de

degradação oxidativa do MR assemelha-se ao perfil da SQR, entretanto, não são iguais devido às intensidades dos sinais das degradações serem diferentes.

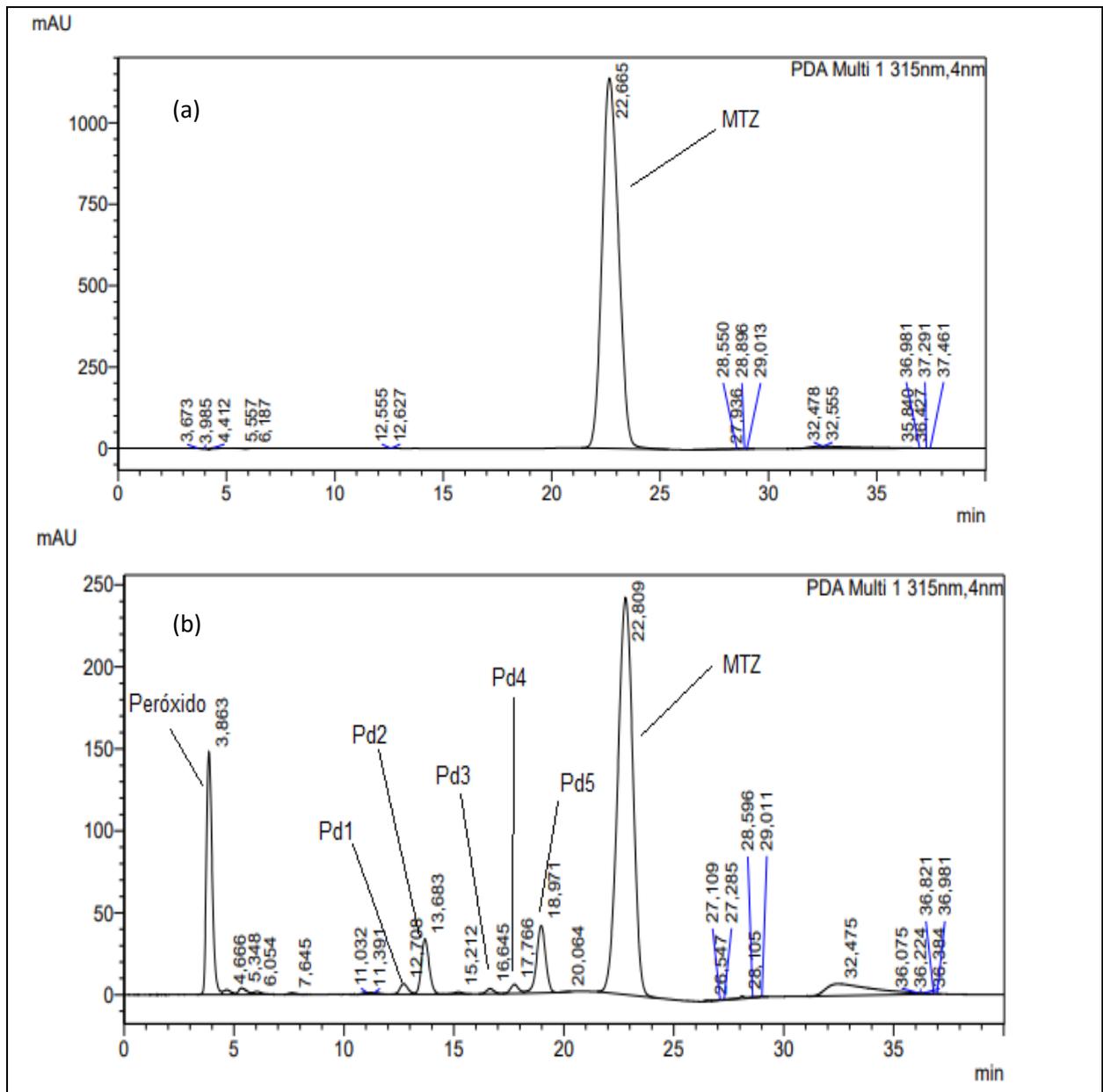
Figura 14 - Cromatogramas da (a) amostra referência do MR da (b) amostra degradada em 364 horas



Fonte: O autor,2021.

Os produtos de degradação selecionados no cromatograma do MG1 degradado também apresentaram semelhança quanto ao tempo de retenção dos produtos da SQR. Entretanto, somente foi possível a seleção de 5 produtos de degradação significativos que foram enumerados (Figura 15).

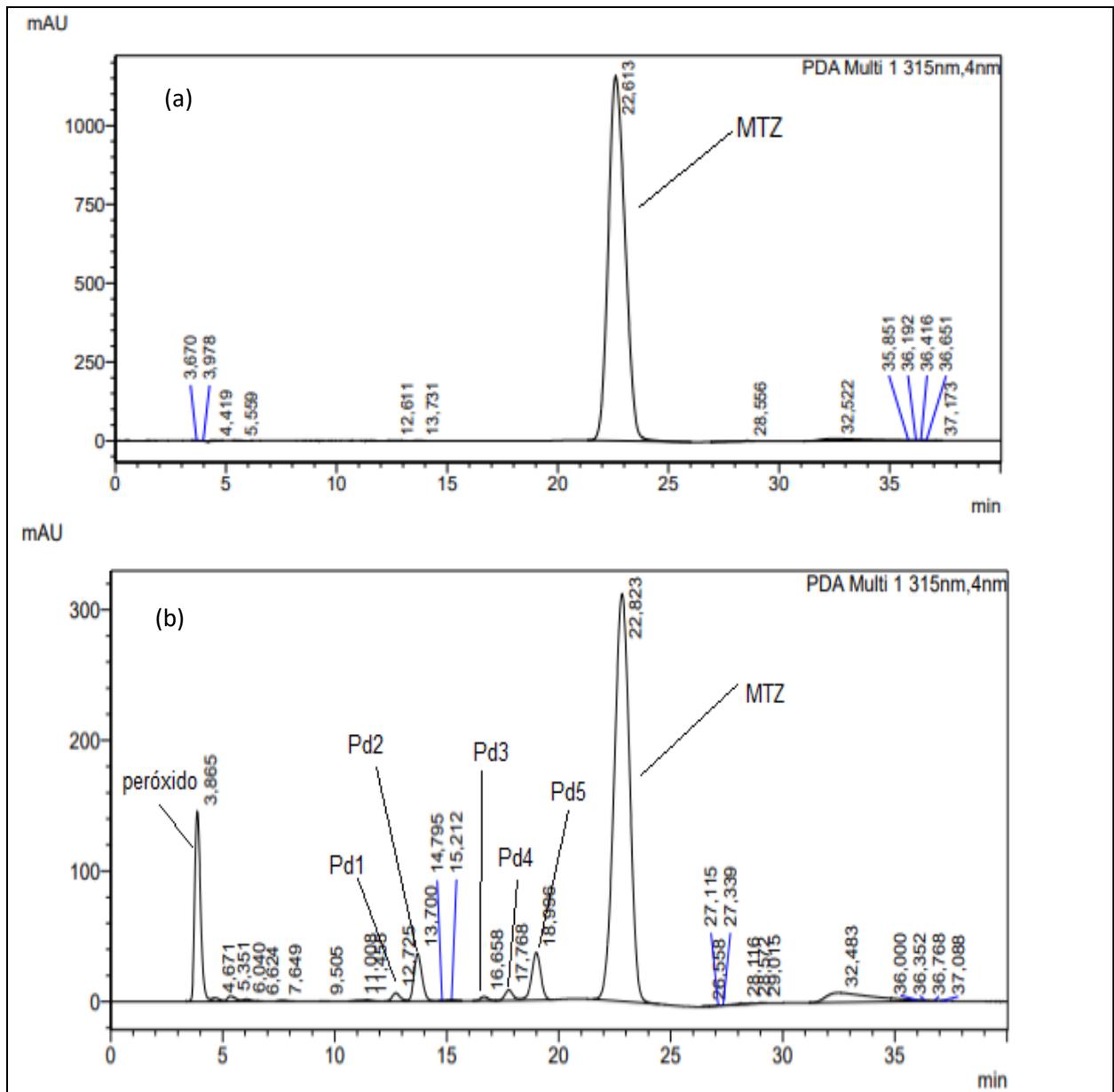
Figura 15 - Cromatograma da (a) amostra referência do MG1 da (b) amostra degradada em 364 horas



Fonte: O autor, 2021.

No cromatograma do MG2 degradado foi selecionado 5 sinais significativos referente aos produtos de degradação em comparação com a sua amostra referência, esses sinais foram enumerados (Figura 16).

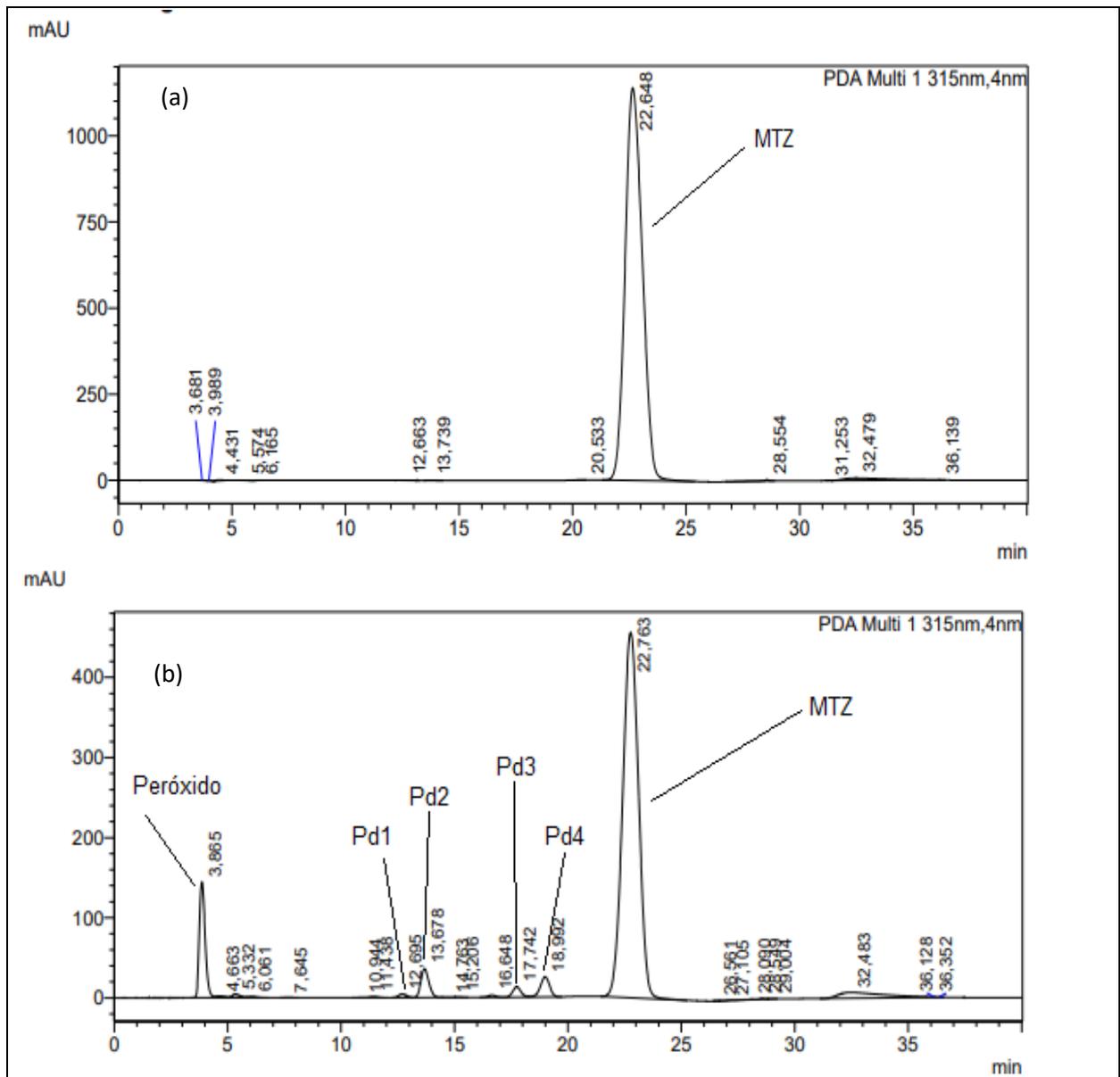
Figura 16 - Cromatogramas da (a) amostra referência do MG2 e da (b) amostra degradada em 364 horas



Fonte: O autor, 2021.

No cromatograma do MS1 degradado foram selecionados e enumerados 4 produtos de degradação (Figura 17) em comparação com a amostra referência.

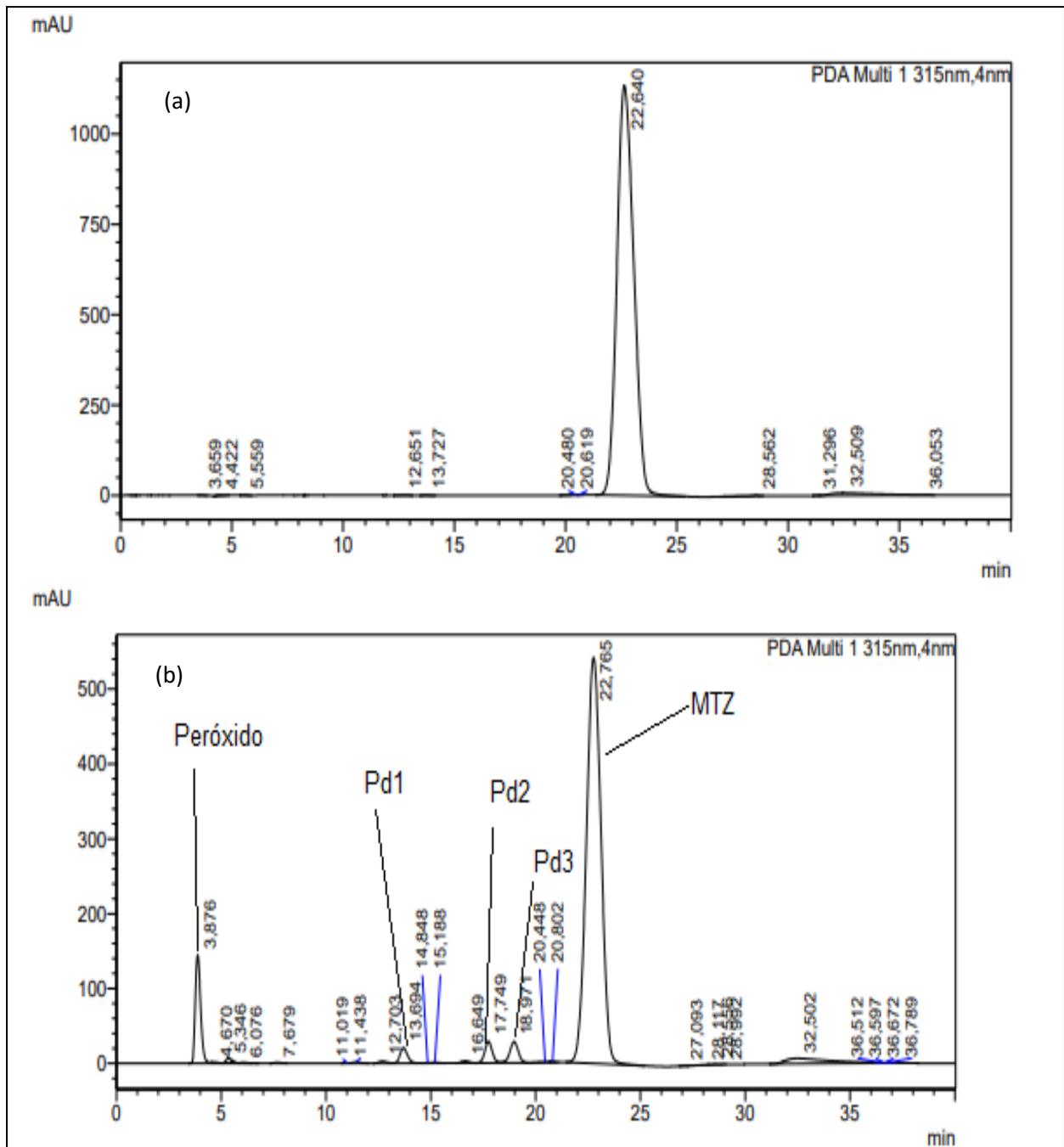
Figura 17 - Cromatogramas da (a) amostra referência do MS1 e da (b) amostra degradada em 364 horas



Fonte: O autor, 2021.

No cromatograma do MS2 degradado foram selecionados e enumerados 3 produtos de degradação (Figura 18) em comparação com a amostra referência.

Figura 18 - Cromatograma da (a) amostra referência do MS2 da (b) amostra degradada em 364 horas



Fonte: O autor, 2021.

Com base nos dados expostos acima foi possível construir uma tabela contendo o número do produto de degradação selecionado, o tempo de retenção e a porcentagem de degradação formada em comparação a área do MTZ inicial (Tabela 4). Através da tabela é possível observar que todos os medicamentos participantes do estudo apresentam sinais de produtos de degradação: 7 na SQR; 7 no MR; 5 no MG1; 5 no MG2; 4 no MS1 e 3 no MS2. Observa-se também que o número de

produtos de degradação está relacionado diretamente com o decaimento do MTZ: SQR (3,65 %); MR (12,51 %); MG1 (19,04 %); MG2 (19,95 %); MS1 (28,4 %) e MS2 (33,20 %), como era de se esperar a SQR por estar mais exposta (sem excipientes) sofreu a maior taxa de degradação. Entretanto, verificou-se uma pequena discordância em relação ao MG1 e MG2, que apesar de possuírem o mesmo número de PD, o teor do MG2 foi pouco superior ao teor do MG1. Esta discordância pode estar relacionada com a variabilidade normal dos resultados analíticos para o teor de MTZ em ambos, que foi menor que 1 %. Em relação a SQR possuir o teor de MTZ consideravelmente menor que o MR, ambas apresentando o mesmo número de PD, pode estar relacionado à maior exposição do MTZ na SQR por não possuir excipientes. Portanto, o MTZ no MR está em formulação com excipientes que oferecem determinada proteção contra o processo de degradação. Por isso, o IFA no MR sofreu menor taxa de degradação em relação a SQR.

Tabela 4 – Produtos de degradação formados na SQR e nos medicamentos do estudo após 364 horas de exposição ao agente degradante

SQR			MR			MG1			MG2			MS1			MS2		
PD	RT (min)	%	PD	RT (min)	%	PD	RT (min)	%	PD	RT (min)	%	PD	RT (min)	%	PD	RT (min)	%
Pd1	11.05	0,11	Pd1	11.05	0,06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pd2	12.71	0,12	Pd2	12.72	0,19	Pd1	12.71	0,20	Pd1	12.69	0,21	Pd1	12.72	0,15	-	-	-
Pd3	13.69	0,38	Pd3	13.70	0,89	Pd2	13.68	1,17	Pd2	13.67	1,21	Pd2	13.69	1,20	Pd1	13.68	0,83
Pd4	15.22	0,09	Pd4	15.22	0,06	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pd5	16.65	0,07	Pd5	16.65	0,13	Pd3	16.65	0,10	Pd3	16.65	0,10	-	-	-	-	-	-
Pd6	17.79	0,03	Pd6	17.78	0,15	Pd4	17.77	0,24	Pd4	17.75	0,27	Pd3	17.76	0,41	Pd2	17.75	0,74
Pd7	18.97	1,07	Pd7	18.97	1,73	Pd5	18.97	1,40	Pd5	18.98	1,48	Pd4	19.01	1,01	Pd3	18.97	1,21
MTZ	22.66	3,65	MTZ	22.87	12,51	MTZ	22.81	19,04	MTZ	22.81	19,95	MTZ	22.81	28,43	MTZ	22.77	33,20

Fonte: O autor, 2020.

A Farmacopeia Europeia (EF, 2016) cita 7 impurezas relacionadas ao MTZ, enquanto que a Farmacopeia dos Estados Unidos - 39 (USP, 2016) especifica apenas 1. Os PD identificados a partir dos sinais gerados predizem ser essas impurezas, entretanto, novos experimentos devem ser realizados para confirmar esses dados.

Importante destacar que dentre os medicamentos do presente estudo foi verificado que o MR apresentou uma maior taxa de degradação. Este fato corrobora

para a necessidade de se incentivar mais essa avaliação nos estudos necessários para a escolha de um medicamento de referência. Para a indústria farmacêutica a utilização de um medicamento de referência como comparador para os seus produtos, no que tange aos ensaios preconizados pela legislação, a estabilidade é fundamental para mitigar o risco sanitário dos produtos que a indústria disponibilizará ao mercado.

Por outro lado, os produtos gerados variaram em quantidade e intensidade de sinais quando comparados entre si e com os produtos de degradação gerados pela SQR. Os dados mostraram que todos os PD gerados pela SQR estavam presentes nos 5 medicamentos do estudo. Esse fato indica ser viável o estabelecimento de uma SQR MTZ (degradação oxidativa) para monitorar a qualidade e a segurança dos produtos comercializados de modo mais eficiente do que somente monitoramento com a SQR da FB que somente foca no princípio ativo MTZ. Portanto, o estabelecimento de uma SQR contendo as principais degradações do princípio ativo (pela degradação oxidativa) seria de grande interesse para as indústrias farmacêuticas, pois teriam a disposição além do material estabelecido, um método de partida mais robusto que o método farmacopeico para desenvolvimento de um MIE. Além desse fato, os Laboratórios Oficiais responsáveis pelo monitoramento do Controle de Qualidade (INCQS e Lacens) teriam acesso a um material certificado e método mais robusto para mitigar o risco sanitário associado às possíveis degradações presentes nos produtos comercializados. Atualmente, os métodos farmacopeicos preconizados para realizar análises de controle de qualidade não são mais adequados para monitorar todas as possíveis degradações presentes nos produtos comercializados conforme preconizam a RDC nº 53/2015 e Guia nº 04/2015, RDC nº 166/2017 e Guia nº 10/2017.

Como limitações do presente estudo podemos citar a atual Pandemia que limitou significativamente o tempo aos trabalhos presenciais; a falta de coluna C8 reserva; o número pequeno de medicamentos (fabricantes), a obra no laboratório onde encontrava-se o cromatógrafo utilizado no estudo. Como perspectivas do presente estudo podemos citar: ampliar o estudo com mais medicamentos comercializados contendo MTZ e/ou com outros medicamentos; ampliar a discussão sobre a base técnica na escolha do medicamento de referência e estabelecer SQR após degradação forçada oxidativa a partir da SQR MTZ da FB.

## 7 CONCLUSÃO

O presente trabalho possibilitou avaliar a estabilidade oxidativa de 5 medicamentos contendo MTZ comercializados no Brasil, sendo o MTZ do MR que apresentou maior taxa de decaimento e maior quantidade de PD no final do estudo, em contrapartida, o medicamento similar 2 apresentou menor taxa de decaimento do MTZ e menor número de PD. Os resultados sugerem que os PD encontrados na SQR estão presentes nos medicamentos do estudo, em quantidade e intensidade de sinais diferentes. Esses dados sugerem a necessidade de avaliar as bases técnicas empregadas na escolha do candidato a medicamento de referência comparador. Os dados do estudo também mostraram a presença dos PD gerados pela SQR nos 5 medicamentos do estudo, este fato indica ser viável o estabelecimento de uma SQR MTZ (degradação oxidativa) para monitorar a qualidade e a segurança dos produtos comercializados de modo mais eficiente.

## REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). **Farmacopeia Brasileira**. 6. ed. Brasília, 2019. v. 1.

ALCÂNTRA, F.; RESCIA, V. C.; SANTOS, M.A.; VALDUGA, C.J. Teste de Degradação Forçada para Fármacos e Medicamentos. **Revista de Pesquisa e Inovação Farmacêutica**, v.5, n.1, p. 38-48, 2013.

ALLEN, JR.; POPOVICH, N.; ANSEL, H. **Formas farmacêuticas e sistema de liberação de fármacos**. 9. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

ALSANTE, K. *et al.* Recent Trends in Product Development and Regulatory Issues on Impurities in Active Pharmaceutical Ingredient (API) and Drug Products. Part 1: Predicting Degradation Related Impurities and Impurity Considerations for Pharmaceutical Dosage Forms. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 15, p. 198–212, 2014.

ARAÚJO, L. *et al.* Medicamentos genéricos no Brasil: panorama histórico e legislação. **Revista Panamericana de Salud Pública**, v. 28, p. 480-492, 2010.

ATICI, E. *et al.* Development and validation of stability indicating HPLC methods for related substances and assay analyses of amoxicillin and potassium clavulanate mixtures. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 136, p. 1-9, 2017.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2005.

BAERTSCHI, S.; JANSEN, P. Stress Testing: a predictive Tool. *In*: BAERTSCHI, S.W. (ed.). **Pharmaceutical Stress Testing**: predicting drug degradation. Boca Raton: CCR Press, 2005. p. 13-44.

BAJAJ, S.; SINGLA, D.; SAKHUJA, N. Stability Testing of Pharmaceutical Products. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 3, p. 129-138, 2012.

BLESSY, M.; PATEL, R.; PRAJAPATI, P.; AGRAWAL, Y. Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs - A review. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, v. 4, n.3, p. 159-165, 2013.

BRASIL. Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a Vigilância Sanitária a que ficam sujeitos os Medicamentos, as Drogas, os Insumos Farmacêuticos e Correlatos, Cosméticos, Saneantes e Outros Produtos, e dá outras Providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n., p., 24 set. 1976.

BRASIL. Lei nº 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 19 set. 1990.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº. 3.916, de 30 de outubro de 1998. Estabelece a Política Nacional de Medicamentos e define as diretrizes, as prioridades e as responsabilidades da Assistência Farmacêutica para os gestores federal, estadual e municipal do Sistema Único de Saúde – SUS. **Diário Oficial da União**, Nº. 215-E, Brasília-DF, 10 de nov. de 1998.

BRASIL. Lei nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 26 jan. 1999 a.

BRASIL. Medida Provisória nº 2.190 - 34, de 23 de agosto de 2001. Altera dispositivos das Leis nº 9.782 e nº .437. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, p. 15, 24 ago. 2001.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 135, DE 29 de maio de 2003. Aprova o Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 104, p. 28, 02 jun 2003 a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 133, DE 29 de maio de 2003. Dispõe sobre o Registro de Medicamentos Similares e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 104, p. 25, 02 jun. 2003 b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 134, de 29 de maio de 2003. Dispões sobre Adequação de Medicamentos já registrados. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 104, p. 26, 29 maio 2003 c.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 16, de 2 de março de 2007. Aprova o Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 43, 5 de mar. 2007 a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 17, de 2 de março de 2007. Aprova o Regulamento Técnico para Registro de Medicamento Similar. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 43, p. 30, 16 ago 2007 b.

BRASIL. Conselho Nacional de Secretários de Saúde. **Vigilância em saúde: Coleção Progesteres - Para entender a gestão do SUS - Parte 1**. Brasília: CONASS, v. 6, 2007c

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 20, de 05 de maio de 2011. Dispõe sobre o controle de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos, de uso sob prescrição, isoladas ou em associação. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 87, p. 39, 09 maio 2017.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Lista de medicamentos similares e seus respectivos medicamentos de referência conforme RDC nº 58/2014. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 11 maio 2020 b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 58, de 10 de outubro de 2014. Dispõe sobre as medidas a serem adotadas junto à Anvisa pelos titulares de registro de medicamentos para a intercambialidade de medicamentos similares com o medicamento de referência. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 197, p. 659, 13 out 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Perguntas e Respostas - Assunto: RDC 53/2015 e Guia 4/2015. **Diário Oficial da União**: 1 ed. Brasília-DF. 2015. Disponível em: < [www.anvisa.gov.br/legis](http://www.anvisa.gov.br/legis)> Acesso em: 07 jan. 2021.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 53, de 04 de dezembro de 2015. Estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 233, p. 48-49, 07 dez. 2015 a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia nº 4 versão 1, de 04 de dezembro de 2015 b. Guia para obtenção do perfil de degradação, e identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos. Disponível em: < [www.anvisa.gov.br/legis](http://www.anvisa.gov.br/legis)> Acesso em: 07 jan. 2021.

BRASIL. Lei nº 13.235, de 29 de dezembro de 2015. Altera a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, para equiparar o controle de qualidade de medicamentos similares ao de medicamentos genéricos. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, p. 1, 30 dez. 2015 c.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 73, de 29 de abril de 2016. Dispõe sobre mudanças pós-registro, cancelamento de registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 67, p. 32. 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 200 de 26 de dezembro de 2017. Dispõe sobre os critérios para a concessão e renovação do registro de medicamentos com princípios ativos sintéticos e semissintéticos, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 248, p. 84, 28 dez. 2017 a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 174, de 15 de setembro de 2017. Dispõe sobre a atualização da lista de antimicrobianos registrados na Anvisa. **Diário Oficial da União**: seção 1, Brasília, DF, n. 179, p. 46, 18 set. 2017 b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medicamentos Genéricos Registrados por ordem alfabética do nome do medicamento de referência. **Diário Oficial da União**: Brasília, DF, 05 ago. 2019c.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais. **Diário Oficial da União**: 1ª ed eletrônica. 2020 a. Disponível em: [https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao\\_medicamentos\\_rename\\_2020.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_medicamentos_rename_2020.pdf). Acesso em: 07 jan. 2021.

BRUMMER, H. How to approach a forced degradation study. **LifeSci Technol Bull**, n. 31, p.1-4, 2011.

BRUNI, G. *et al.* Drug-exciipient compatibility studies in binary and ternary mixtures by physico-chemical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.102, n. 1, 2009.

EMEA. ICH Topic Q1A (R2) Stability Testing of new drug substances and products. **ICH – International Conference on Harmonization**: Londres, fev. 2003.

EMEA. ICH Topic Q3B (R2) mpurities in New Drug Products. **ICH - Internacional Conference on Harmonization**: Londres, jun. 2006.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA, Strasbourg: **European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM)**, 9 ed., Council of Europe, 2016.

FLORENCE, A.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. 4 ed. São Paulo: Edusp, 2011.

FREED, A. *et al.* pH control of nucleophilic/electrophilic oxidation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 357, n. 1–2, p. 180-188, 2008.

GALLO, M.B.C. *et al.* Termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial e estudo de degradação forçada do metronidazol insumo farmacêutico e comprimidos de 250 mg. **Revista Analytica**, ano 16, v. 97, p. 8-19, 2018.

GEMAL, A.; TEIXEIRA, C.; CARMO, E.; VITAL, N. Definições sobre o componente laboratorial de vigilância sanitária no Brasil. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 4, n. 4, p. 5-12, 2016.

GOODMAN, G.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapeutica de Goodman & Gilman**. 12. ed. São Paulo: ARTMED, 2012.

HAGE, D.; CARR, J. **Química analítica e análise quantitativa**. São Paulo: Pearson, p. 708, 2012.

HOSSAIN, M. The ICH guidance in practice: Stress degradation studies on aceclofenac and development of a validated stability-indicating reversed-phase

HPLC assay in tablet dosage form. **Der Pharma Chemica**, v. 5, n. 4, p.136-146, 2013.

HUYNH-BA, K. **Handbook of stability testing in pharmaceutical development**. New York: Springer, 2008.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE (Brasil). **Atividades**. Rio de Janeiro: INCQS, [s. d.]. Disponível em: [https://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=73&Itemid=68](https://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=73&Itemid=68). Acesso em: 10 jan. 2021a.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE (Brasil). **Produtos e serviços**. Rio de Janeiro: INCQS, [s. d.]. Disponível em: [https://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=68&Itemid=63](https://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=68&Itemid=63). Acesso em: 10 jan. 2021b.

KORNIS, G.; BRAGA, M. Os Marcos Legais das Políticas de Medicamentos no Brasil Contemporâneo (1990-2006). **Rev. APS**, v. 11, n. 1, p. 85–99, 2008.

KRAFT, M.; KOCHERGIN, P.; TSYGANOVA, A.; SHLIKHUNOVA, V. Synthesis of metronidazole from ethylenediamine. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 23, p. 861–863, 1989.

KUMAR, V.; SHAH, R.; MALIK, S.; SINGH, S., Compatibility of atenolol with excipients: LC-MS/TOF characterization of degradation/interaction products, and mechanisms of their formation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, p. 880-888, 2009.

LINDSAY, S. **High performance liquid chromatography**. [S. l.]: ACEOL, 1987.

LOPES, R.; DE SETA, M. Integração laboratórios-vigilância sanitária: uma revisão. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 5, n. 2, p. 97, 2017.

MELO, S. **Produtos de degradação**: regulamentação sanitária e proposta de monografia para qualificação. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

MURRAY, P.; ROSENTHAL, S.; PFALLER, M. **Medical Microbiology**. 8. ed. Philadelphia: Elsevier, 2015.

OLIVEIRA, C.; CRUZ, M. Health Surveillance System in Brazil: advances and challenges. **Saúde em Debate**, v. 39, n. 104, p. 255-267, 2015.

PIECHOCK, J.; THOMA, K. **Pharmaceutical Photostability and Stabilization Technology**. Ed. Informa Healthcare USA, 2007.

RANG, H.; DALE, M.; RITTER, J. **Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016.

RAO, N. R.; KIRAN, M.; PRASANTHI, N.L. Pharmaceutical impurities: An Overview. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 44, n. 3, p. 301-310, 2010.

RAO, B.V.; SOWJANYA, G.N.; AJITHA, A.A.; RAO, V.U.M. A review on stability indicating HPLC method development. **World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences**, v. 4, p. 405-423, 2015.

SHINDE, G. *et al.* Pharmaceutical Forced Degradation Studies with Regulatory Consideration Namdeo Asian J. **Asian Journal of Research in Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 4, p. 178-188, 2013.

SILVA, J.; COSTA, E.; LUCCHESI, G. SUS 30 anos: Vigilância Sanitária. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, n. 6; p. 1953-1962, 2018.

SILVA, K. *et al.* Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n. 2, p. 129-135, 2009.

SINGH, D.; SAHU, A.; KUMAR, S.; SINGH, S. Critical review on establishment and availability of impurity and degradation product reference standards, challenges faced by the users, recent developments, and trends. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 101, p. 85-107, 2017.

SINGH, S.; SAHU, A.; KUMAR, S.; SINGH, S. Forced degradation studies to assess the stability of drugs and products. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 49, p. 71-88, 2013.

SINGH, S.; BAKSHI, M. Guidance on conduct of tests to determine inherent stability of drugs. **Pharmaceutical Technology**, v. 24, p. 1-14, 2000.

SMITH, R.; WEBB, M. **Analysis of drug impurities**. [S.l.]: Wiley-Blackwell, 2008.

TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos anti-infecciosos**. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1999.

TIBOLA, A. **Estudo de compatibilidade entre a isoniazida e excipientes farmacêuticos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2009.

US Pharmacopoeia, Rockville: **The US Pharmacopoeial Convention**. 39 ed., 2016.

WATERMAN, K.; ADAMI, R. Accelerated aging: prediction of chemical stability of pharmaceuticals. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 293, n. 1, p. 101-125, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION; DEPARTMENT OF MENTAL HEALTH *et al.* **Mental health atlas 2005**. [S.l.]: World Health Organization, 2005.