

Vanessa Liliana Pereira Santos

Estabilidade e tempo de vida útil de fármacos e medicamentos

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2012



Vanessa Liliana Pereira Santos

Estabilidade e tempo de vida útil de fármacos e medicamentos

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto 2012

Vanessa Liliana Pereira Santos

Estabilidade e tempo de vida útil de fármacos e medicamentos

Trabalho apresentado à universidade Fernando Pessoa para obtenção do  
grau de Mestrado integrado em Ciências Farmacêuticas

---

## Sumário

Todos os materiais, naturais ou sintéticos sofrem alterações com o tempo sob a ação de diversos fatores ambientais (temperatura, luz, humidade). O mesmo acontece com os fármacos e medicamentos, sendo os primeiros mais estáveis, e os fármacos em formas sólidas mais estáveis do que os que se encontram em formas líquidas. Neste trabalho são referidos os fatores dos quais a estabilidade depende, assim como os processos de degradação mais frequentes.

A decomposição dos fármacos obriga a que seja determinado o seu prazo de validade. Assim as empresas farmacêuticas estimam o tempo de vida, de forma a determinar a quantidade de tempo que o medicamento se encontra de acordo com as especificações preconizadas pelas entidades reguladoras.

O processo de determinação do tempo de vida útil de um medicamento é designado como análise de estabilidade.

Os estudos da estabilidade dos fármacos e medicamentos são projetados de forma a fornecer uma visão sobre o mecanismo de degradação e uma estimativa da data de expiração (tempo de semi-vida) ou outro tempo para o qual se obtenha uma determinada percentagem de degradação. Para tal recorre-se a modelos matemáticos, verificando-se uma interligação de duas áreas aparentemente distintas. Os modelos matemáticos são uma das mais poderosas ferramentas nos processos de avaliação e otimização de amostras. É importante determinar experimentalmente a ordem de uma reação e os parâmetros envolvidos que a caracterizam. Isto envolve a determinação da constante de cinética ( $K$ ) para se obter a correta ordem da reação de degradação (ordem 0, 1 ou 2), através da relação entre a concentração ( $C$ ) e o tempo ( $t$ ) a várias temperaturas ( $T$ ). Posteriormente, a relação entre a velocidade de reação a várias temperaturas e a temperatura ambiente é obtida com recurso à equação de Arrhenius. É o modelo conjunto que permite prever/estimar tempos com interesse particular, que para a situação de se atingir metade da concentração inicial do composto em causa se designa como tempo de semi-vida.

**PALAVRAS-CHAVE:** estabilidade, prazo de validade, processos de degradação, fatores ambientais, cinética de reação, Arrhenius.

## Abstract

All materials, natural or synthetic go through changes with time, under the action of various factors (temperature, light and humidity). The same occurs with all drugs and medications, been the drugs more stable, these in solid forms are more stable than the ones in liquid forms. This work refers to the factors to which the stability depends, as well as the degradation process more frequents.

The decomposition in the drug, forces the determination of the validity. This way the pharmaceutical companies estimates the shelf life, in a way to determinate how long the drug remains in accordance with the specifications recommended by the regulating authorities.

The process of determination of the shelf life of a drug is designated as a stability analysis.

The studies of stability of drugs and medications are projected in a way to indicate the degradation process, to estimate the expiry date (shelf life) or other time in which to obtain a percentage of degradation. For this is used mathematical methods verifying a interrelation of two areas completely different. The mathematical methods are one of the most powerful tools in the process of evaluation and optimization of samples. It is important to determinate experimentally the order of a reaction and the parameters involved that characterizes the order of reaction. This involves determination of constant kinetics (K), to obtain the correct order of reaction of the degradation (order 0, 1 or 2), through the relation between concentration (C) and time (t) to various temperatures (T). After, the relation between the speed of reaction to various temperatures and the environment temperature is obtained through Arrhenius equation. It is the joint model that allows predict/estimate times with particular interest. In case of the initial concentration of the compound reaching half, is designated as time of semi life.

**Keywords:** Stability, Shelf life, Degradation process, Environmental factors, Reaction kinetics, Arrhenius.

## Agradecimentos

Terminada mais uma etapa, um longo percurso, tenho de agradecer a todos que me apoiaram e que de alguma forma, marcaram a minha vida.

Aos meus pais, que como sempre não mediram esforços para que eu alcançasse os meus sonhos, por todo o apoio, amor incondicional e sacrifício.

Aos meus irmãos por todo o carinho, paciência e orgulho que sempre demonstraram por mim.

Deixo uma palavra de apreço a todos os professores que me acompanharam ao longo deste trajeto, em especial à minha orientadora, a Prof. Doutora Conceição Manso pelo apoio, esforço, dedicação, conselhos e paciência durante a realização deste trabalho.

A todos os meus amigos, em especial à Joana Santos, ao João Paixão, à Joana Moreira, à Sara Pascoal e ao André Salvador, que estiveram sempre presentes com palavras de apoio e amizade.

A todos, o meu muito obrigada, sem vocês nada disto seria possível!

# Índice

I- Introdução.....	1
II- Desenvolvimento.....	4
1. Fatores que influenciam a estabilidade .....	5
1.1 pH.....	6
1.2 Temperatura .....	7
1.3 Luz.....	8
1.4 Oxigênio.....	10
1.5 Humidade .....	11
1.6 Material de embalagem .....	12
1.6.1 Vidro .....	12
1.6.2 Elastómeros .....	13
1.6.3 Metal .....	13
1.6.4 Plástico .....	13
1.7 Excipientes .....	14
1.8 Interações entre fármaco-fármaco ou fármaco-excipiente .....	14
2. Processos de alteração dos medicamentos .....	16
2.1 Degradação química.....	16
2.1.1 Alteração por hidrólise .....	16
2.1.2 Alteração por oxidação-redução.....	21
2.1.3 Fotodegradação .....	26
2.1.4 Racemização.....	27
2.2 Degradação física .....	28
2.2.1 Cristalização em fármacos amorfos .....	28
2.2.2 Transição entre estados cristalinos .....	29
2.2.3 Formação e crescimento de cristais.....	30
2.2.4 Transferência de fase de vapor incluindo a sublimação .....	30
2.2.5 Adsorção de humidade .....	30
3. Técnicas utilizadas para previsão da estabilidade .....	31
3.1 Equação de Arrhenius .....	31
3.2 Cinética das reações (ordem 0, 1 e 2).....	34
3.3. Determinação do tempo de semi-vida de fármacos.....	38
4. Determinação do prazo de validade .....	39

5. Estudos .....	43
5.1 Estudo da estabilidade de comprimidos Gastro-Resistentes de Omeprazol.....	43
5.2 Determinação do prazo de validade do medicamento carbocisteína xarope através do método de Arrhenius .....	51
III- Conclusão.....	57
Bibliografia .....	58
Anexo .....	65

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> – Determinação do valor de pH para a estabilidade máxima de uma substância ativa (Lachman <i>et al.</i> , 2001).	6
<b>Figura 2</b> – Influência da temperatura sobre a velocidade de degradação (Lachman <i>et al.</i> , 2001)	7
<b>Figura 3</b> - Fotodegradação da furosemida seguida de eliminação/hidrolise.	9
<b>Figura 4</b> – Passagem do oxigénio tripleto a oxigénio singleto pela luz.	10
<b>Figura 5</b> – Diferentes espécies de oxigénio.	10
<b>Figura 6</b> – Fármaco onde ocorrem reações de substituição e adição pelo bissulfito: Epinefrina.	15
<b>Figura 7</b> – Fármaco onde ocorrem reações de substituição e adição pelo bissulfito: Dexametasona.	15
<b>Figura 8</b> – Acetilação entre a codeína e o ácido acetilsalicílico (Yoshioka e Stella, 2002).	15
<b>Figura 9</b> - Hidrolise de um éster.	17
<b>Figura 10</b> – Hidrólise de um éster pelos dois processos, ácido e básico (Prista <i>et al.</i> , 2009).	18
<b>Figura 11</b> - Hidrolise de uma amida.	21
<b>Figura 12</b> - Oxidação do ácido ascórbico.	22
<b>Figura 13</b> – Primeira fase da auto-oxidação: iniciação.	23
<b>Figura 14</b> - Segunda fase da auto-oxidação: propagação.	23
<b>Figura 15</b> - Terceira fase da auto-oxidação: decomposição em hidróxido e peróxido.	23
<b>Figura 16</b> - Terceira fase da auto-oxidação: terminação.	23
<b>Figura 17</b> - Fotodegradação da nifedipina originando uma desidrogenação.	27
<b>Figura 18</b> – Organização molecular nas formas farmacêuticas sólidas (Newman e Byrn, 2003).	29
<b>Figura 19</b> - Estrutura química do Omeprazol.	43
<b>Figura 20</b> - Valores de teor residual de Omeprazol (%) obtidos para a formulação sem revestimento (SR). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (Fonte: Murakami <i>et al.</i> , 2009).	44
<b>Figura 21</b> - Valores de teor residual de Omeprazol (%) obtidos para a formulação com revestimento 1 (R1). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (Fonte: Murakami <i>et al.</i> , 2009).	45
<b>Figura 22</b> - Valores de teor residual de Omeprazol (%) obtidos para a formulação com revestimento 2 (R2). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (Fonte: Murakami <i>et al.</i> , 2009).	45
<b>Figura 23</b> - Valores de teor residual de Omeprazol (%) (pontos) obtidos para a formulação sem revestimento (SR) e valores previstos pela reação de 2ª ordem (linha). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (adaptado de Murakami <i>et al.</i> , 2009).	48
<b>Figura 24</b> - Valores de teor residual de Omeprazol (%) (pontos) obtidos para a formulação com revestimento 1 (R1) e valores previstos pela reação de 2ª ordem (linha). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras	48

representam o desvio padrão (adaptado de Murakami *et al.*, 2009).

**Figura 25-** Valores de teor residual de Omeprazol (%) (pontos) obtidos para a formulação com revestimento 2 (R2) e valores previstos pela reação de 2ª ordem (linha). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (adaptado de Murakami *et al.*, 2009). 49

**Figura 26-** Valores de variação de peso (mg) obtidos para a formulação sem revestimento (SR). Os pontos representam a média de 10 réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (calculado a partir do desvio padrão relativo) (Fonte: Murakami *et al.*, 2009). 49

**Figura 27-** Valores de variação de peso (mg) obtidos para a formulação com revestimento 1 (R1). Os pontos representam a média de 10 réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (calculado a partir do desvio padrão relativo) (Fonte: Murakami *et al.*, 2009). 50

**Figura 28-** Valores de variação de peso (mg) obtidos para a formulação com revestimento 1 (R1). Os pontos representam a média de 10 réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (calculado a partir do desvio padrão relativo) (Fonte: Murakami *et al.*, 2009). 50

**Figura 29** – Estrutura química da carbocisteína. 51

**Figura 30-** Valores de pH obtidos para o xarope de carbocisteína. Os pontos representam a média de 3 réplicas em 4 temperaturas de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (Fonte: Manfio *et al.*, 2007). 53

**Figura 31-** Valores de concentração de carbocisteína (mg/ml) obtidos para o xarope de carbocisteína. Os pontos representam a média de 10 réplicas em 4 temperaturas de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (Adaptado de: Manfio *et al.*, 2007). 53

**Figura 32-** Ajuste da cinética de 1ª ordem à degradação da concentração de carbocisteína (mg/ml) obtidos para o xarope de carbocisteína (Eq. 25), a 3 temperaturas de armazenamento distintas. Os pontos representam a média de 10 réplicas distintas e as barras representam o desvio padrão (Fonte: Manfio *et al.*, 2007); As linhas representam a cinética de 1ª ordem ajustada aos dados. 55

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> – Tipos de estabilidade (Ansel <i>et al.</i> , 1999, <i>cit. in</i> Leite, 2005).	2
<b>Tabela 2</b> - Alguns exemplos de antioxidantes.	25
<b>Tabela 3</b> - Efeito do aumento de 10°C (20°C para 30°C) na constante de velocidade de degradação de diversos fármacos, com diferentes valores de $E_a$ (Yoshioka e Stella, 2002).	32
<b>Tabela 4</b> - Energia de ativação das reações de degradação de vários fármacos (Prista <i>et al.</i> , 2009).	33
<b>Tabela 5</b> - Diferentes estudos (ICH, 2003).	41
<b>Tabela 6</b> - Zonas climáticas do planeta, respetiva temperatura e humidade relativa (Oriqui <i>et al.</i> , 2011; WHO, 2012).	42
<b>Tabela 7</b> – Constituintes da formulação dos comprimidos de Omeprazol (Murakami <i>et al.</i> , 2009).	44
<b>Tabela 8</b> – Equações utilizadas para o cálculo da degradação do fármaco (Murakami <i>et al.</i> , 2009).	47
<b>Tabela 9</b> – Valores de $k$ e $t_{90\%}$ obtidos, utilizando as equações de segunda ordem (Murakami <i>et al.</i> , 2009).	47
<b>Tabela 10</b> – Valores de $K$ obtidos para a reação de 1ª ordem (Manfio <i>et al.</i> , 2007).	54

## I- Introdução

Segundo o estatuto do medicamento presente no Decreto-Lei 176/2006 de 30 de Agosto, Medicamento é definido como, toda a substância ou associação de substâncias apresentada como possuindo propriedades curativas ou preventivas de doenças em seres humanos ou dos seus sintomas ou que possa ser utilizada ou administrada no ser humano com vista a estabelecer um diagnóstico médico ou, exercendo uma ação farmacológica, imunológica ou metabólica, a restaurar, corrigir ou modificar funções fisiológicas.

Fármaco é uma substância química, definida estruturalmente, usada para fornecer ao organismo os elementos essenciais, utilizada na prevenção, tratamento e/ou correção de situações disfuncionais (Larini, 2008).

Na área farmacêutica consideram-se, substâncias medicamentosas ou princípios ativos, às matérias-primas utilizadas na formulação de medicamentos. Excipientes, substâncias não ativas, adicionadas como adjuvantes na formulação. Medicamentos aos produtos farmacêuticos após acondicionamento nas embalagens finais e colocados no mercado (Oriqui *et al.*, 2011).

A estabilidade sempre foi uma preocupação e um requisito inerente à preparação de medicamentos. Com o avanço das tecnologias e industrialização, este problema encontra-se reduzido, contudo com a necessidade de produção em grande escala não é possível prever a sua utilização imediata, assim torna-se fundamental a preparação dos mesmos com boas condições de conservação e a determinação do respetivo prazo de validade, durante o qual, este é estável (Prista *et al.*, 2009).

A estabilidade de um medicamento pode ser definida, como a capacidade da formulação manter as suas propriedades físicas, químicas, microbiológicas, terapêuticas e toxicológicas (Tabela 1) (Gennaro *et al.*, 2000; Vadas, 2000, *cit. in* Murakami *et al.*, 2009). Segundo Lachman *et al.* (2001), «a caracterização da estabilidade de um fármaco está bastante legislada. Um fármaco é considerado adulterado se não reunir as características de qualidade e pureza que é suposto ter».

O uso dos fármacos como adjuvantes na terapêutica, baseia-se na sua eficácia e segurança, assim torna-se fundamental que estes sejam estáveis e mantenham a sua qualidade até ao final do seu prazo de validade (Yoshioka e Stella, 2002).

**Tabela 1** – Tipos de estabilidade (Ansel *et al.*, 1999, *cit. in* Leite, 2005).

<b>Tipos de Estabilidade</b>	Manter dentro dos limites especificados, durante o prazo de validade, no medicamento
Química	A integridade química e a potência indicadas na embalagem
Física	As propriedades físicas originais
Microbiológica	A esterilidade ou resistência ao crescimento microbiológico e a eficácia dos agentes antimicrobianos quando presentes
Terapêutica	Efeito terapêutico deve permanecer inalterado
Toxicológica	Não pode ocorrer aumento de toxicidade

A determinação do prazo de validade de um medicamento é apelidada de estudo de estabilidade, sendo a sua realização indispensável por parte da indústria farmacêutica, no desenvolvimento de formulações farmacêuticas. Contudo estes estudos implicam longos períodos de armazenamento sob condições controladas de temperatura e humidade (Oliveira *et al.*, 2011).

Desta forma, os estudos de estabilidade desempenham um papel fulcral no desenvolvimento de medicamentos, de forma a garantir a qualidade do produto final (Melveger e Huynh-Ba, 2009; Murakami *et al.*, 2009).

Este trabalho teve como objetivo fazer uma revisão sobre a determinação de estabilidade de fármacos e medicamentos e seu tempo de vida útil. Refere-se os fatores dos quais a estabilidade depende, assim como os processos de degradação mais frequentes. No que diz respeito ao tempo de vida útil dos medicamentos, é feita uma abordagem à Equação de Arrhenius, à cinética das reações e tempo de semi-vida. Finalmente à determinação do prazo de validade e estudos necessários a efetuar. Foram utilizados dois estudos no desenvolvimento deste trabalho, para uma abordagem

prática/exemplificação relativamente à determinação da estabilidade e tempo de vida útil de dois medicamentos distintos: o estudo realizado por Murakami *et al.* (2009), sobre a estabilidade de comprimidos gastro-resistentes contendo 20 mg de Omeprazol, e o estudo realizado por Manfio *et al.* (2007), da determinação do prazo de validade de um xarope de carbocisteína.

## II- Desenvolvimento

De acordo com Oriqui *et al.* (2011), as indústrias farmacêuticas realizam os seus estudos de estabilidade, baseando-se nas Guias de Boas Práticas do *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, ICH.

A estabilidade dos medicamentos depende de fatores ambientais como a temperatura, humidade, luz e de fatores relacionados com o próprio medicamento como as propriedades físicas e químicas, os princípios ativos, os excipientes, da forma farmacêutica, processo utilizado na produção e do tipo de material da embalagem e suas propriedades (Melveger e Huynh-Ba, 2009; Silva *et al.*, 2009).

A forma mais estudada e facilmente compreendida de instabilidade é a diminuição do princípio ativo. Esta ocorre através de uma reação química, o que resulta numa redução da sua potência e qualidade. É de salientar que este é apenas uma das muitas formas de perda de princípio ativo (Yoshioka e Stella, 2002; Melveger e Huynh-Ba, 2009; Waterman, 2009).

Estabilidade química pode ser definida como a capacidade de uma substância manter as suas características químicas e potência dentro dos valores legislados (Allen *et al.*, 2005, *cit. in* Murakami *et al.*, 2009). Na estabilidade química pode-se recorrer a princípios de cinética para estudar a degradação de um fármaco, assim como o mecanismo de degradação. Torna-se bastante mais complicado quando se pretende estudar um ou mais fármacos numa forma farmacêutica líquida, devido à diversidade de constituintes, às interações que podem ocorrer entre eles como também, ao facto de estes possuírem características de degradação diferentes (Lachman *et al.*, 2001).

É possível avaliar a estabilidade de qualquer composto de uma preparação, através da determinação de uma propriedade ao longo do tempo. Ao linearizar-se uma função é possível determinar a influência da temperatura na degradação. As informações obtidas em condições de teste exageradas e de curta duração permitem obter a estabilidade química de uma substância ativa (Lachman *et al.*, 2001).

A instabilidade física, apesar de ser menos referida, por vezes, pode revelar-se mais importante, pois as alterações que a forma farmacêutica pode sofrer durante o armazenamento podem ter implicações mais graves do que a instabilidade química (Waterman, 2009). A forma física original deve ser mantida, assim como as características organolépticas, aparência, uniformidade e dissolução (Felton *et al.*, 1996 e Allen *et al.*, 2005, *cit. in* Murakami *et al.*, 2009). A formação/crescimento de cristais, alterações na velocidade de dissolução ou desintegração, formação de sedimento e descoloração são exemplos de alterações físicas (Lachman *et al.*, 2001).

As formas farmacêuticas sólidas são as que apresentam maior estabilidade, dado a ausência de água. Contudo podem sofrer alterações por ação da humidade, ou mesmo do material onde se encontram acondicionadas (Prista *et al.*, 2008 a). A estabilidade destas formas farmacêuticas também depende dos excipientes escolhidos, os quais, podem interferir na estabilidade física, química e biodisponibilidade. Estes, podem melhorar significativamente as características da formulação, como também, diminuir a sua eficácia (Grimm, 1998 e Kalinkova, 1999, *cit. in* Murakami *et al.*, 2009).

As formas farmacêuticas líquidas são bastante mais instáveis do que as sólidas. Variações na temperatura de armazenamento e pH podem provocar problemas na solubilização do fármaco. As soluções devem ser límpidas, com cor e odores adequados, devem ser destituídas de precipitação, descoloração, turvação, formação de gases e desenvolvimento microbiano (Pombal *et al.*, 2010).

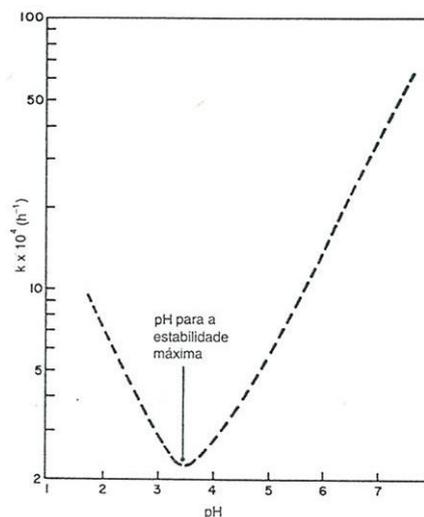
## **1. Fatores que influenciam a estabilidade**

Todos os medicamentos se alteram. Estas alterações podem dever-se a fatores externos (como pH, temperatura luz, humidade, oxigénio) e/ou a fatores internos (interações entre fármacos, entre fármacos e os solventes e ou adjuvantes, compostos dos recipientes, presença de impurezas, entre outros). As alterações podem ocorrer

rapidamente ou mais lentamente, manifestando-se nas características organolépticas ou não. Sendo estas últimas mais graves, visto que não são detetadas facilmente. Estas alterações podem levar à perda parcial ou total da atividade do medicamento ou à formação de produtos que possuem maior toxicidade do que o fármaco que lhes deu origem (Prista *et al.*, 1990; Fernández *et al.*, 2001).

## 1.1 pH

O pH é o fator que influencia mais a estabilidade em soluções aquosas e um dos fatores mais importantes na estabilidade dos medicamentos. O pH pode influenciar a velocidade das reações hidrolíticas, catalisadas por prótons ou íons hidroxilo. Para prótons a catalise ocorre a valores de pH mais baixos, e no caso de íons hidroxilo ocorre para valores de pH mais elevados (Lachman *et al.*, 2001). É possível estudar a sua influência na velocidade de degradação, através da representação do logaritmo em função do pH (Figura 1), mantendo constantes a temperatura, a força iónica e a concentração do solvente. Obtém-se a constante de velocidade de degradação do princípio ativo através da determinação da cinética de reação (Fernández *et al.*, 2001).



**Figura 1** – Determinação do valor de pH para a estabilidade máxima de uma substância ativa (Lachman *et al.*, 2001).

O ponto mínimo da curva, representada na Figura 1, corresponde ao valor de pH mais estável para uma substância. Esta determinação é fundamental para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica estável (desde que, claro está, o pH se encontre entre os limites fisiológicos admissíveis) (Lachman *et al.*, 2001).

## 1.2 Temperatura

A temperatura é o fator ambiental mais importante, influenciando diretamente a estabilidade de um fármaco, pois promove um aumento da velocidade das reações. Este efeito encontra-se representado pela equação sugerida por Arrhenius (Pombal *et al.*, 2010). A avaliação do efeito da temperatura sobre a velocidade de degradação permite, prever a estabilidade do medicamento para a temperatura de armazenamento, a partir de ensaios de estabilidade acelerados (relacionando essas duas temperaturas) (Figura 2) (Lachman *et al.*, 2001).



**Figura 2** – Influência da temperatura sobre a velocidade de degradação (Lachman *et al.*, 2001)

A maioria das reações ocorre mais rapidamente a temperaturas mais elevadas do que a temperaturas mais baixas (Yoshioka e Stella, 2002). A velocidade de uma reação duplica por cada aumento de 10°C da temperatura (Lachman *et al.*, 2001). Contudo este aumento não se aplica à maioria dos casos, sendo necessário estabelecer protocolos de estudo de estabilidade para cada formulação (Lachman *et al.*, 2001).

É possível concluir que a temperatura é um importante fator e a sua influência pode ser minimizada selecionando a temperatura adequada de armazenamento (Yoshioka e Stella, 2002). É natural assumir que os processos ocorrem da mesma forma, para temperaturas elevadas e temperaturas mais baixas. Contudo isso nem sempre se verifica, o que acarreta algumas dificuldades na aplicação da equação de Arrhenius para a previsão de estabilidade (Beezer *et al.*, 1999).

### **1.3 Luz**

É desejável que todas as moléculas utilizadas para a produção de medicamentos, sejam investigadas para verificar se são reativas à luz, devido à possibilidade de os produtos formados serem tóxicos. Contudo o fato de as moléculas serem reativas sob certas condições, não implica que sejam sensíveis a alterações durante condições normais de armazenamento ou utilização (Moore, 2006).

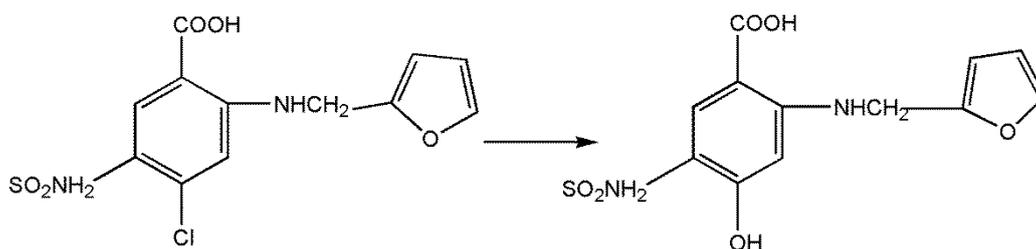
As reações de decomposição de fármacos podem ser desencadeadas através de radiação luminosa que funciona como energia de ativação (Lachman *et al.*, 2001). Existem moléculas que não absorvem significativamente a luz ambiente (solar ou artificial), mas são sensíveis a radiações com menores comprimentos de onda (Moore, 2006). A absorção de radiações ocorre na zona do visível e ultravioleta e promovem quebra de ligações, isomerização, racemização, entre outros processos (Murakami *et al.*, 2009).

Existem produtos que apresentam alterações físicas e químicas provocadas por este fator, efeito que pode ser minimizado através do armazenamento em recipientes adequados que sejam resistentes à luz. No caso de soluções ou suspensões é recomendável o uso de recipientes de vidro âmbar. Em formas farmacêuticas sólidas, como comprimidos, cápsulas, pós, é aconselhável o uso de embalagens opacas (Lachman *et al.*, 2001; Tønnesen, 2001; Moore, 2006). Também é possível incorporar na preparação, aditivos que absorvem a radiação, através da competição com o princípio ativo (Moore, 2006).

A fotodegradação de fármacos depende muito, das propriedades espectrais da substância, como também, da distribuição espectral da fonte de luz (Yoshioka e Stella, 2002).

É importante salientar que a cinética das reações fotoquímicas é mais complexa do que a das reações térmicas, pois depende de um maior número de variantes (Lachman *et al.*, 2001).

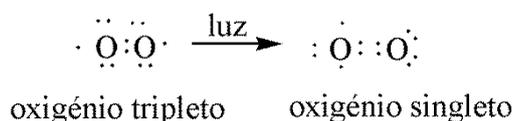
Como exemplo de fármacos fotossensíveis podem mencionar-se a hidroclorotiazida e a furosemida (Figura 3), diuréticos mais frequentemente utilizados no tratamento da hipertensão arterial e remoção de edema, sendo por esta razão os diuréticos mais estudados a nível de estabilidade (Moore, 2006).



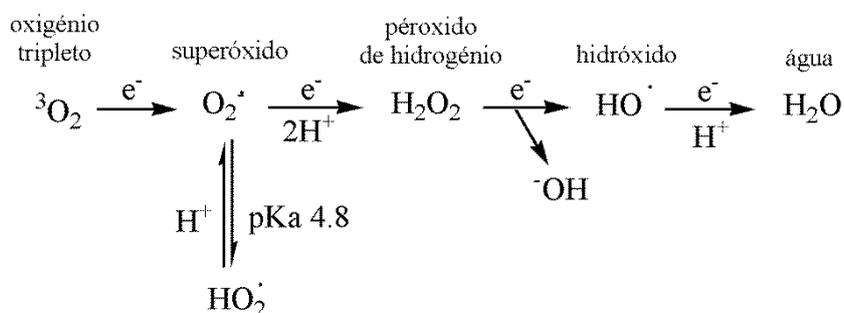
**Figura 3-** Fotodegradação da furosemida seguida de eliminação/hidrolise.

## 1.4 Oxigénio

O oxigénio existe em vários estados, sendo o mais usual a forma molecular  $O_2$ , a qual pode ser excitada pela luz, originando  $O_2^{\cdot-}$ . O oxigénio após oxidação pode originar outras espécies capazes de catalisar reações de oxidação (Figura 4 e 5). A degradação do fármaco pode ser desencadeada por este fator, que depende não só da presença de oxigénio e concentração, mas também, da fotodegradação, presença de várias espécies deste elemento, outros radicais, iões metálicos e pressão elevada de oxigénio (Yoshioka e Stella, 2002).



**Figura 4** – Passagem do oxigénio tripleto a oxigénio singleto pela luz.



**Figura 5** – Diferentes espécies de oxigénio.

A ocorrência deste processo de degradação pode ser minimizada através do uso de gás inerte para preencher o espaço livre do recipiente, de antioxidantes, agentes quelantes, recipientes herméticos e dar preferência ao uso de recipientes unidose (Lachman *et al.*, 2001; Pombal *et al.*, 2010).

Entre os exemplos mais recorrentes de oxidação, encontra-se a vitamina C (ácido ascórbico) (Prista *et al.*, 2008 a). É utilizada na síntese de colagénio e material intercelular, indicada na deficiência em vitamina C e como acidificante urinário (Caramona *et al.*, 2011).

## 1.5 Humidade

A humidade pode provocar degradação em medicamentos no estado sólido e semi-sólido. Funciona como catalisador na degradação química, atuando de duas formas:

- a água atua diretamente no processo de degradação como reagente levando à hidrólise, hidratação, isomerização ou a outras reações químicas, ou
- a água é absorvida à superfície do fármaco, formando uma camada de hidratação, levando à sua dissolução e degradação (Yoshioka e Stella, 2002) .

A absorção de água pode resultar numa alteração do estado físico do fármaco, afetando a sua reatividade (Yoshioka e Stella, 2002).

Segundo Pombal *et al.* (2010), trabalhar num ambiente seco e adicionar um absorvente de humidade à embalagem do medicamento pode diminuir os efeitos da humidade.

O ácido ascórbico, o ácido acetilsalicílico (aspirina) e a vitamina A, são alguns exemplos de fármacos afetados pela humidade (Yoshioka e Stella, 2002). A aspirina é classificada como analgésico e antipirético, usada principalmente em casos de dor ligeira a moderada e piroxia. A vitamina A, também conhecida como retinol, é essencial ao crescimento, desenvolvimento e manutenção do tecido epitelial e à visão, está

indicada no tratamento e prevenção de deficiências em vitamina A, perturbações da pele como acne entre outras (Caramona *et al.*, 2011).

## **1.6 Material de embalagem**

O material de embalagem está ou pode estar em contacto direto com o medicamento. O qual, não deve reagir química ou fisicamente com o seu conteúdo de forma a não alterar a sua potência, qualidade e pureza, acima dos limites estabelecidos (Gennaro *et al.*, 2000). É importante que a sua escolha seja feita de acordo com a influência que o mesmo exerce sobre a estabilidade do produto, assim como também na sua capacidade de preservar a eficácia do medicamento durante o seu armazenamento. Os materiais convencionalmente usados são o vidro, os elastómeros, o metal e o plástico (Lachman *et al.*, 2001).

### **1.6.1 Vidro**

- Tem sido o material de eleição para acondicionamento, devido à sua resistência à deterioração pelas condições atmosféricas e pelos conteúdos sólidos ou líquidos com composição química diferente, como também pela possibilidade de ajustar a resistência do vidro à radiação. No entanto, também possui desvantagens como a libertação de sais alcalinos e partículas insolúveis para os líquidos armazenados (Gennaro *et al.*, 2000; Lachman *et al.*, 2001). De forma a contornar estas desvantagens, tem sido propostas soluções como o tratamento da superfície do vidro. Realça-se que, sempre que a forma farmacêutica seja líquida, esta deve ser tamponada de forma a evitar alterações de pH por libertação de substâncias alcalinas do vidro (Lachman *et al.*, 2001).

### **1.6.2 Elastómeros**

- Englobam a borracha natural e sintética, são utilizados no fabrico de rolhas, tetinas para conta-gotas e tampas (Prista *et al.*, 2008 b). Uma das desvantagens é a cedência ou absorção do princípio ativo, do conservante ou de outros constituintes, resultando na inativação ou perda de estabilidade da formulação (Lachman *et al.*, 2001).

### **1.6.3 Metal**

- Utilizado preferencialmente em formas farmacêuticas semi-sólidas como pastas, geles, cremes ou pomadas (Prista *et al.*, 2008 b). Podem ser constituídos por um só material ou podem ser revestidos. Quando possuem apenas um material a sua estabilidade face ao produto é facilmente testada, se possuírem mais do que um material é necessário verificar se o mesmo é inerte para a preparação, se reveste completamente o outro material, se quebra com facilidade e se possui resistência ao seu conteúdo (Lachman *et al.*, 2001).

### **1.6.4 Plástico**

- Antes de mais é necessário ter em conta, que este tipo de material abrange uma grande variedade de polímeros de elevado peso molecular, em que cada um possui propriedades físicas e químicas diferentes (como o polietileno, polipropileno, poliestireno, cloreto de polivinilo, etc.). Tem-se verificado um crescente uso deste material, em que parte ou toda a sua estrutura é composta por plástico. A principal desvantagem do seu uso, face ao vidro, é a permeabilidade da solução contida no recipiente para o meio ambiente e do meio ambiente para a solução. É de referir que a preparação pode reagir física e quimicamente com o recipiente, levando à deformação do material (Gennaro *et al.*, 2000; Lachman *et al.*, 2001).

## 1.7 Excipientes

Os excipientes possuem um papel fundamental na estabilidade dos medicamentos. Podem afetar a estabilidade do fármaco através de vários mecanismos, podendo participar diretamente na degradação como reagentes, ou catalisar as reações de degradação (Yoshioka e Stella, 2002).

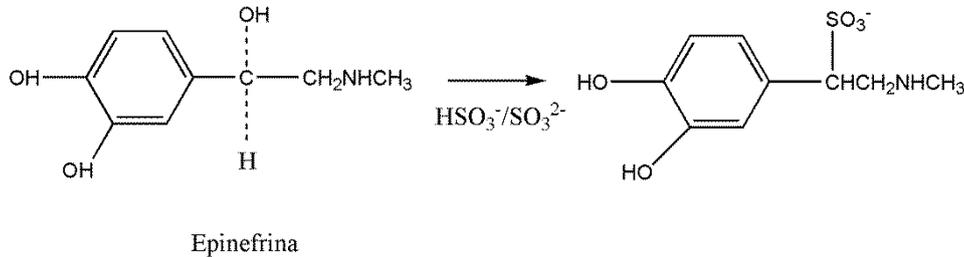
A descoloração de comprimidos que contêm aminas e lactose encontra-se aumentada com a adição de estearato de magnésio (Castello e Mattocks, 1962, *cit. in* Yoshioka e Stella, 2002), assim como também, a degradação de comprimidos de aspirina é afetada por impurezas de talco (Gold e Campbell, 1964, *cit. in* Yoshioka e Stella, 2002), ácido esteárico (Maulding *et al.*, 1968 a e b, *cit. in* Yoshioka e Stella, 2002), e succinato de cálcio (Nazareth e Huyck, 1961, *cit. in* Yoshioka e Stella, 2002), que representam exemplos negativos que os excipientes podem desempenhar na formulação.

Mas os excipientes também contribuem para melhorar a estabilidade dos medicamentos, como por exemplo, o efeito estabilizador dos açúcares na degradação do ácido ascórbico em soluções aquosas (Bandelin e Tuschhoff, 1955, *cit. in* Yoshioka e Stella, 2002).

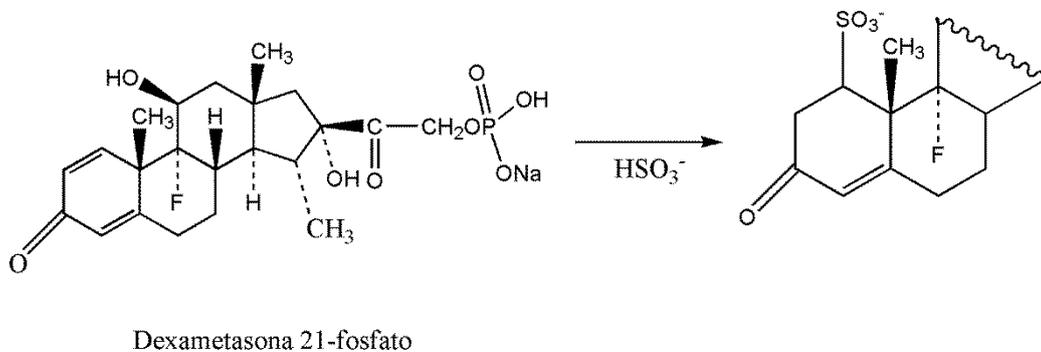
## 1.8 Interações entre fármaco-fármaco ou fármaco-excipiente

É raro o fármaco ser administrado separadamente, sendo o medicamento composto, para além do fármaco, por excipientes ou aditivos. O medicamento pode conter mais do que um fármaco. Assim, podem ocorrer interações entre fármacos ou entre os fármacos e os excipientes, comprometendo a estabilidade do medicamento (Yoshioka e Stella, 2002).

Reações de substituição e adição podem ocorrer na presença de bissulfito, antioxidante bastante utilizado, a fármacos como epinefrina e dexametasona (Figura 6 e 7) (Leite, 2005).



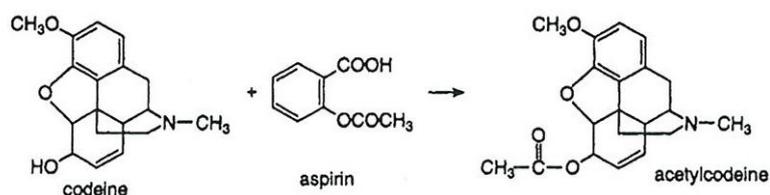
**Figura 6** – Fármaco onde ocorrem reações de substituição e adição pelo bissulfito: Epinefrina.



**Figura 7** – Fármaco onde ocorrem reações de substituição e adição pelo bissulfito: Dexametasona.

A dexametasona é um corticosteroide de longa duração, indicada para inibir a secreção cortico-suprarrenal, em síndrome adrenogenital e em alguns casos de hirsutismo (Caramona *et al.*, 2011).

Devido à incompatibilidade existente é possível visualizar, na Figura 8, a acetilação que ocorre entre a codeína e o ácido acetilsalicílico (ASS), quando utilizados em associação (Yoshioka e Stella, 2002).



**Figura 8** – Acetilação entre a codeína e o ácido acetilsalicílico (Yoshioka e Stella, 2002).

A codeína é classificada como antitússico e expetorante, indicada na tosse seca persistente (Caramona *et al.*, 2011).

Outro exemplo de incompatibilidade entre fármaco – excipiente, ocorre em formulações de comprimidos de glibenclamida com o estearato de magnésio (Oliveira *et al.*, 2005, *cit. in* Oliveira *et al.*, 2011). A glibenclamida é um antidiabético oral indicada no tratamento da diabetes mellitus (Caramona *et al.*, 2011).

A estabilidade do fármaco é maior que a do medicamento, já que a  $E_a$  (energia de ativação) do fármaco é sempre superior à da formulação final (Oliveira *et al.*, 2005, *cit. in* Oliveira *et al.*, 2011).

## **2. Processos de alteração dos medicamentos**

### **2.1 Degradação química**

São vários os processos de alteração de medicamentos, como a isomerização, a desidratação, a racemização, a hidrólise, a oxidação-redução e a fotodegradação. Apenas se abordarão os mais frequentes, que são a hidrólise, a oxidação-redução, a fotodegradação e a racemização (sendo os três primeiros os mais habitualmente referenciados).

#### **2.1.1 Alteração por hidrólise**

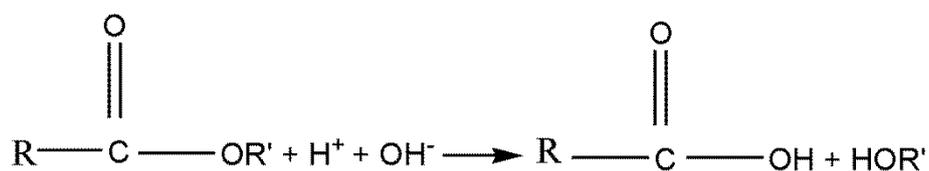
Diversos fármacos possuem na sua constituição grupos amida ou éster, característica que os torna mais propensos a sofrer hidrólise (Gennaro *et al.*, 2000; Yoshioka e Stella,

2002). Esta alteração pode ocorrer em meio aquoso ou por ação da humidade em formas farmacêuticas sólidas (Prista *et al.*, 2009).

Como exemplos de fármacos que podem sofrer este tipo de alteração, incluem-se os antibióticos, anestésicos, vitaminas e barbitúricos (Prista *et al.*, 1990; Lachman *et al.*, 2001).

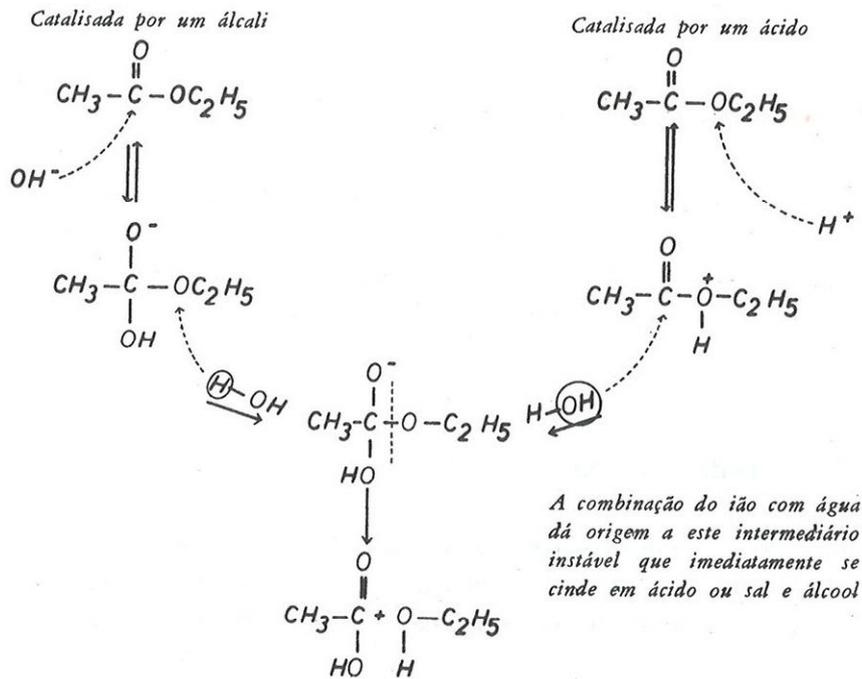
A velocidade a que as reações ocorrem depende da temperatura e do pH. Um princípio várias vezes referido diz que por cada aumento de 10°C na temperatura de armazenamento, duplica ou triplica a velocidade da reação, o que nem sempre se verifica. Em termos práticos quando ocorre hidrólise de um fármaco, verifica-se a diminuição do princípio ativo e o aumento dos produtos de degradação. A alteração da velocidade de reação depende da ordem da reação (Gennaro *et al.*, 2000).

A hidrólise de um éster (Figura 9), consiste na sua separação num álcool e num ácido, através do rompimento de uma ligação covalente entre um átomo de carbono e um de oxigénio (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009).



**Figura 9-** Hidrólise de um éster.

Esta alteração pode ocorrer em água pura ou devido à ação de um catalisador, como sucede na maioria dos casos, o qual possui natureza polar, como ácidos, bases e algumas enzimas (Lachman *et al.*, 2001). A hidrólise pode ser ácida ou alcalina, diferindo apenas, no facto da segunda ocorrer de forma irreversível e por isso ser quantitativa (Figura 10). Quando esta ocorre em meio ácido, o processo é reversível, logo a reação pode deslocar-se num ou noutro sentido dependendo se o meio possui água ou álcool em excesso (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009).



**Figura 10** – Hidrólise de um éster pelos dois processos, ácido e básico (Prista *et al.*, 2009).

Existem fatores, em que a sua variabilidade pode contribuir para diminuir a hidrólise dos fármacos como:

### - pH

A solução de um fármaco deve ser preparada de forma, a que o seu pH seja o mais próximo possível da estabilidade ótima da substância (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009). O intervalo de pH para que ocorra o mínimo de degradação depende do íon com maior importância na reação (Gennaro *et al.*, 2000). O que nem sempre se verifica devido a razões fisiológicas. Os colírios e os injetáveis, por exemplo, são dois dos grupos de formas farmacêuticas em que o seu pH deve estar o mais próximo possível da neutralidade (Prista *et al.*, 2009). Este fator é importante para a determinação da velocidade de uma reação (Gennaro *et al.*, 2000).

### **- Solvente**

A quantidade de água presente é de extrema importância para a velocidade da reação (Gennaro *et al.*, 2000). Em meio aquoso, no caso da velocidade da reação ser rápida, uma forma de a diminuir consiste em substituir a água por solventes com constantes dielétricas menores como o etanol, os glicóis, soluções de glucose ou manitol, entre outras (Prista *et al.*, 2009).

### **- Complexação**

A velocidade a que ocorre degradação hidrolítica pode ser alterada de duas maneiras, pela formação de complexos ou por efeitos estéricos ou polares (Lachman *et al.*, 2001). Em que o primeiro processo retarda a ocorrência de hidrólise e o segundo pode aumentar ou diminuir a velocidade com que este fenómeno ocorre (Prista *et al.*, 1990). A reação pode ser também influenciada pelos eletrões do agente complexante (alterando a afinidade do ião carbonílico do éster para as espécies catalíticas) (Lachman *et al.*, 2001).

### **- Tensioativos**

A utilização de tensioativos (aniónicos, catiónicos e não iónicos) leva à estabilização do fármaco no que diz respeito à degradação hidrolítica. Contudo verifica-se uma estabilização superior aquando da utilização de tensioativos aniónicos ou catiónicos (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009).

Os tensioativos aniónicos formam uma barreira eletronegativa à superfície das partículas do fármaco em solução, repelindo desta forma os iões  $\text{OH}^-$ , que se encontram impedidos de exercer a sua ação catalítica. Por sua vez a utilização de tensioativos catiónicos forma uma barreira eletropositiva que atrai os iões  $\text{OH}^-$ , fixando-os, de forma que estes não atinjam a molécula de fármaco, exercendo assim um efeito protetor. Os não iónicos não oferecem uma proteção muito elevada, pois permitem um notável ataque hidrolítico (Prista *et al.*, 1990).

### **- Modificação na estrutura química**

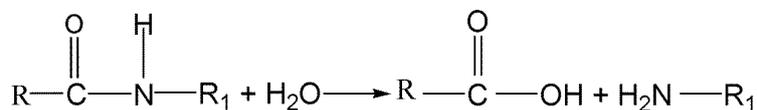
Modificações na estrutura química do fármaco podem contribuir para retardar a hidrólise (Gennaro *et al.*, 2000). Substituintes adicionados à cadeia alquil ou acil dos ésteres alifáticos ou aromáticos, como também ao anel benzénico dos ésteres aromáticos, provocam uma diminuição da velocidade na reação de degradação. Um aumento da cadeia ou ramificações na cadeia acil ou alquílica, retardam a ocorrência do processo (Lachman *et al.*, 2001).

A velocidade da reação pode ser aumentada ou diminuída por efeito eletrónico, através da introdução de grupos electrofílicos ou nucleofílicos na cadeia lateral acil ou alquílica, ou nos anéis benzénico ou aromático. A hidrólise alcalina aumenta com a presença de grupos electrofílicos, e é retardada com a presença de grupos nucleofílicos. Este tipo de hidrólise é frequentemente mais afetada pelos efeitos polares do que as hidrólises ácidas (Prista *et al.*, 2009). Por sua vez a hidrólise ácida é mais afetada por retardamento estérico. Verifica-se um efeito superior na hidrólise alcalina, produzido por substituintes, do que na hidrólise ácida. Contudo nem sempre é possível recorrer a substituintes da molécula para melhorar a estabilidade, pois estes possuem efeitos sobre a atividade fisiológica fármaco (Lachman *et al.*, 2001).

### **- Formação de sais e esteres**

Uma forma de diminuir a ocorrência de hidrólise é através da redução da solubilidade pela formação de ésteres do fármaco ou de sais, os quais tem de ser menos solúveis que a substância em questão. Assim, só sofre hidrólise a porção de fármaco que se encontrar dissolvida, logo, quanto menos solúvel o fármaco menor a hidrólise (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009). Os derivados instáveis, formados por radicais sem toxicidade (por exemplo ésteres hidrolizáveis), que se encontram ligados às moléculas do fármaco. Estes tem como função melhorar a biodisponibilidade. Após a sua separação, o composto modificado exerce a sua função biológica. Este sofre uma biotransformação por hidrólise, que origina a forma ativa do fármaco (Lachman *et al.*, 2001).

Como foi referido inicialmente compostos que possuam grupos éster ou amida, são suscetíveis de sofrer hidrólise. Nos fármacos com grupos amida, a hidrólise ocorre de forma semelhante aos que contém grupos éster, mas neste caso os produtos finais são um ácido e uma amina (Figura 11) (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009).



**Figura 11-** Hidrólise de uma amida.

As amidas possuem uma estabilidade superior aos ésteres (Lachman *et al.*, 2001). Fármacos em que ocorre este tipo de degradação inserem-se, o paracetamol e o cloranfenicol (Leite, 2005). O paracetamol é analgésico e antipirético, indicado em dor ligeira a moderada e pirexia. O cloranfenicol é um antibacteriano, utilizado no tratamento de infeções superficiais (como conjuntivite), úlcera da córnea, ou, no caso de falta de resposta nos antibióticos de primeira escolha (Caramona *et al.*, 2011).

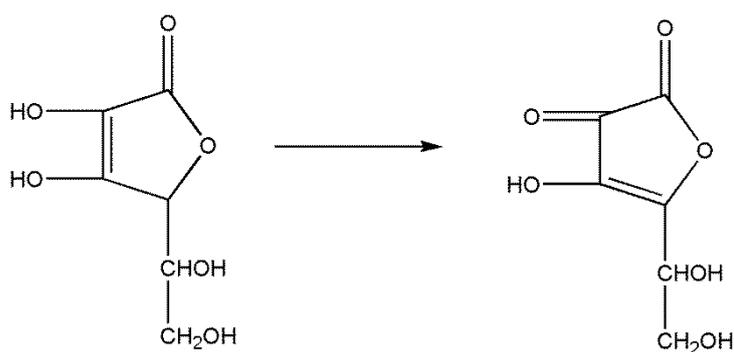
Os fatores que contribuem para retardar ou mesmo eliminar a ocorrência de degradação hidrolítica são similares aos referidos para os ésteres. Contudo, a substituição da água por solventes que possuam constantes dielétricas menores, nem sempre ocorre como seria de prever. Aquando da utilização de cloranfenicol, a substituição de uma parte da água por propilenoglicol, resulta num aumento da velocidade e grau de hidrólise. Uma vez que este solvente se combina com o ácido (dicloroacético) libertado, tem como consequência, a decomposição total do composto (Prista *et al.*, 2009). Assim cada situação deve ser avaliada particularmente, pois podem ocorrer modificações no mecanismo de degradação do respetivo fármaco (Lachman *et al.*, 2001).

### **2.1.2 Alteração por oxidação-redução**

Em alterações por oxidação, forma bem conhecida de degradação química, o oxigénio participa na maioria das reações oxidativas, sendo este um elemento abundante no ambiente ao qual os fármacos estão expostos, durante a sua produção ou armazenamento (Yoshioka e Stella, 2002).

Os processos oxidativos são umas das principais causas de instabilidade dos fármacos, contudo, tal nem sempre implica que ocorra adição de oxigénio ou eliminação de hidrogénio (Gennaro *et al.*, 2000; Lachman *et al.*, 2001). Diz-se que uma substância se oxidou quando perde eletrões (Lachman *et al.*, 2001).

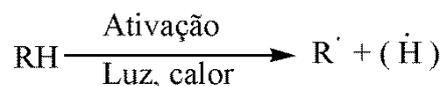
Este tipo de alteração ocorre na adrenalina, alguns esteroides, vitaminas (como ácido ascórbico) (Figura 12) e antibióticos (Yoshioka e Stella, 2002; Silva *et al.*, 2009).



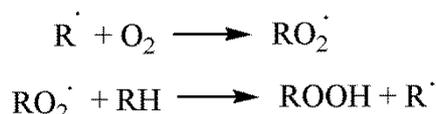
**Figura 12** - Oxidação do ácido ascórbico.

Torna-se difícil reproduzir este tipo de processos, e consequentemente estabelecer o seu mecanismo, pois são bastante complexos e extremamente sensíveis (quando expostos a quantidades vestigiais de metais e outras impurezas) (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009).

Este tipo de reações, são mediadas por radicais livres ou pelo oxigénio molecular (Lachman *et al.*, 2001; Waterman e Adami, 2005). Quando o oxigénio molecular participa na reação, esta designa-se como auto-oxidação, é uma reação em cadeia e ocorre de forma espontânea (Gennaro *et al.*, 2000; Silva *et al.*, 2009). Forma-se um radical livre através da rutura de uma ligação covalente. Estes radicais caracterizam-se por serem bastante insaturados, captam com enorme facilidade os eletrões provocando a oxidação das substâncias com as quais contactam (Prista *et al.*, 1990; Lachman *et al.*, 2001). A auto-oxidação pode ser dividida em quatro fases, tal como explicitadas nas Figuras 13 a 16 apresentadas de seguida.



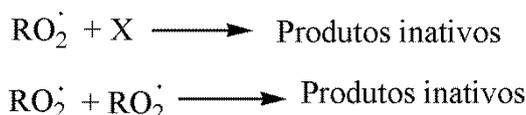
**Figura 13** – Primeira fase da auto-oxidação: iniciação.



**Figura 14** - Segunda fase da auto-oxidação: propagação.



**Figura 15** - Terceira fase da auto-oxidação: decomposição em hidróxido e peróxido.



**Figura 16** - Terceira fase da auto-oxidação: terminação.

Através do esquema apresentado nas Figuras 13 a 16, é possível visualizar que a primeira fase é caracterizada pela decomposição térmica de substâncias presentes ou adicionadas, provavelmente por ação da luz (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009). A fase final pode ocorrer por combinação de dois radicais livres  $\text{RO}_2^\cdot$  ou por intervenção de um radical livre inibidor designado como X (como metabissulfito de sódio, tioureia e cloridrato de cisteína), este converte o radical peroxídico ( $\text{RO}_2^\cdot$ ) num hidroxiperóxido incapaz de propagar a cadeia reacional, estabilizado por ressonância. Para que fenómeno seja exequível necessita somente de uma pequena porção de oxigénio, que deve estar presente na segunda fase (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009).

Os metais pesados com duas ou mais valências são bons catalisadores de oxidação (Lachman *et al.*, 2001). Várias oxidações são catalisadas por protões ou hidroxilo.

É importante também referir a degradação que ocorre nos óleos, a formação de ranço que surge por oxidação de ácidos gordos insaturados leva ao aparecimento de odores

devido a compostos voláteis que existem nos óleos ou nas gorduras. Este tipo de degradação surge pela presença de oxigénio atmosférico, luz e presença de catalisadores (Prista *et al.*, 1990).

A estabilidade dos fármacos pode ser aumentada, quando se modificam vários fatores.

### **Conteúdo em oxigénio**

A maior parte das degradações por oxidação verifica-se em soluções aquosas (Prista *et al.*, 1990). Posto isto, a quantidade de oxigénio presente na água é de extrema importância. Estudos realizados a águas tratadas de diferentes formas, permitiram determinar que estas possuem diferentes quantidades de oxigénio dissolvidas 9,14 ml a 4°C e 5,75 ml a 25°C por litro de água. Também se verificou que a 100°C a água encontra-se praticamente isenta de oxigénio, por sua vez se o arrefecimento de uma água destilada ocorrer num recipiente fechado, verifica-se uma acentuada diminuição da quantidade dissolvida do mesmo. Os melhores resultados foram obtidos, através da utilização de uma corrente de dióxido de carbono, numa água arrefecida a partir da ebulição, sendo os valores de oxigénio dissolvido de 0,45 ml por litro (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009). Também é utilizado o nitrogénio para reduzir a quantidade de oxigénio dissolvido, minimizando desta forma a deterioração por oxidação (Gennaro *et al.*, 2000).

Como grande parte das degradações pode ocorrer por auto-oxidação, deve-se ter em atenção a quantidade de oxigénio presente, como também se torna necessário recorrer ao uso de antioxidantes e agentes quelantes, os quais tem a função de evitar a degradação dos fármacos por oxidação (Prista *et al.*, 1990).

### **Antioxidantes**

A oxidação pode ser inibida recorrendo-se ao uso de antioxidantes, também designados de catalisadores negativos, estes são frequentemente utilizados em produtos farmacêuticos que sofrem reações mediadas por radicais livres (Gennaro *et al.*, 2000). Podem ser definidos como redutores, pois estes possuem um potencial de oxidação

superior ao dos fármacos com os quais vão estar em contacto, ou seja, tem elevada capacidade para se oxidarem, logo, elevado poder redutor. Estes atuam quebrando as cadeias formadas durante a fase de propagação, através do fornecimento de um átomo de hidrogénio ou de um radical livre, os quais adquirem a energia que a molécula ativada possui (Lachman *et al.*, 2001).

Contudo na escolha do anti-oxidante ideal para utilizar, não basta ter em conta o seu potencial de oxidação, devido à complexidade envolvida nestes processos e às impurezas intervenientes. O antioxidante ideal deve ser estável, eficaz num intervalo amplo de pH, solúvel na sua forma oxidada, incolor, atóxico, não volátil, não irritante, eficaz em baixas concentrações, termoestável e compatível com os componentes da formulação (Gennaro *et al.*, 2000).

Existem antioxidantes hidrossolúveis que se oxidam antes do fármaco e solúveis que funcionam como recetores dos radicais livres, inibindo o processo (Lachman *et al.*, 2001). Estudos recentes determinaram que o metabissulfito de sódio, um dos antioxidantes mais utilizados, pode ser inibido por diversos compostos (como manitol, determinados fenóis, cetonas, entre outros), devido à formação de compostos de coordenação, como também acelera a degradação de determinados fármacos como o cloranfenicol e a adrenalina (Prista *et al.*, 2009). A eficácia destes adjuvantes depende da concentração utilizada, quer sejam usados individualmente ou em associação com outros fatores (ex. pH da solução) (Lachman *et al.*, 2001).

**Tabela 2-** Alguns exemplos de antioxidantes (Lachman *et al.*, 2001; Prista *et al.*, 2009).

Sistemas	Antioxidantes
Aquosos	Sulfito, metabissulfito, bissulfito, vitamina C, tiosulfato de sódio, etc...
Oleosos	Galhatos, $\alpha$ -tocoferol, lecitina, etc...

### Agentes quelantes

Denominados também de catalisadores negativos, isto porque, formam quelatos com os metais pesados evitando que estes desempenhem o seu papel de catalisadores positivos

no processo oxidativo. Tem como função também aumentar a eficácia dos antioxidantes (Prista *et al.*, 2009).

### **Solvente**

A substituição da água por outros solventes neste processo de degradação, não ocorre de forma linear, pois existem determinados solventes que funcionam como catalisadores nas reações oxidativas, quando associados com a água ou mesmo quando usados isoladamente (Prista *et al.*, 2009).

### **pH**

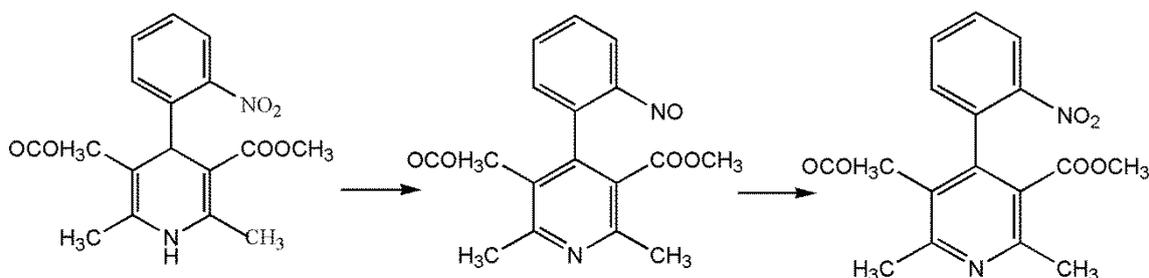
Soluções que contenham constituintes facilmente oxidáveis a pH ácido devem ser tamponadas. Todavia a determinação do pH ideal para se alcançar uma estabilidade máxima, deve ser determinado de forma individual e experimentalmente para cada fármaco (Lachman *et al.*, 2001).

#### **2.1.3 Fotodegradação**

Um fármaco pode ser afetado quimicamente por absorção de radiações, sendo a radiação ultravioleta responsável pela grande maioria das degradações, isto porque, quando menor for o comprimento de onda ( $\lambda$ ) da radiação, mais energia é absorvida por mole de reagente (Lachman *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2009). Quando a molécula que absorve energia é reagente na reação principal, diz-se que ocorreu uma reação fotoquímica, e quando uma molécula absorvente não participa diretamente numa reação, passando a sua energia a outras moléculas reativas, diz-se que a substância é fotossensibilizadora (Gennaro *et al.*, 2000; Lachman *et al.*, 2001). Numa reação fotoquímica existem vários fatores que influenciam a velocidade de reação como a intensidade, comprimento de onda, tamanho, forma do recipiente e composição da cor (Gennaro *et al.*, 2000).

A consequência que normalmente ocorre deste processo de degradação é a perda de potência do fármaco (Tønnesen, 2001). A degradação por esta via foi atribuída a vários

fármacos, como a nifedipina (Figura 17), geralmente os mecanismos que acompanham este tipo de reação são bastante complexos, podendo seguir-se uma oxidação da molécula, na presença de oxigénio (Tønnesen, 2001; Yoshioka e Stella, 2002; Waterman e Adami, 2005).



**Figura 17-** Fotodegradação da nifedipina originando uma desidrogenação.

A nifedipina é um anti-hipertensor, bloqueador da entrada de cálcio e antianginoso (Caramona *et al.*, 2011).

#### 2.1.4 Racemização

Neste tipo de alteração uma substância opticamente ativa perde a sua atividade ótica sem que ocorram alterações na sua composição química (Lachman *et al.*, 2001). A alteração de um composto opticamente ativo num racémico ou numa mistura opticamente inativa de forma dextro (d) e levo (l) é um importante fator de estabilidade farmacêutica. Verificando-se com frequência que a forma l é mais ativa farmacologicamente do que a forma d (Gennaro *et al.*, 2000). Este tipo de modificação pode ocorrer em metade das moléculas presentes com afastamento das suas propriedades óticas, ou mesmo no interior da própria molécula. Processo também conhecido como isomeria ótica. A racemização depende dos grupos funcionais que se encontram ligados a carbonos assimétricos e dos grupos aromáticos (os quais aumentam o processo). Fatores como a temperatura e o pH do meio (Prista *et al.*, 2009), o solvente utilizado, o catalisador e da presença ou ausência de luz (Gennaro *et al.*, 2000) influenciam o processo. É importante referir que através da determinação da velocidade de reação em relação à temperatura e pH, consegue-se determinar as condições ótimas para armazenamento da preparação (Lachman *et al.*, 2001).

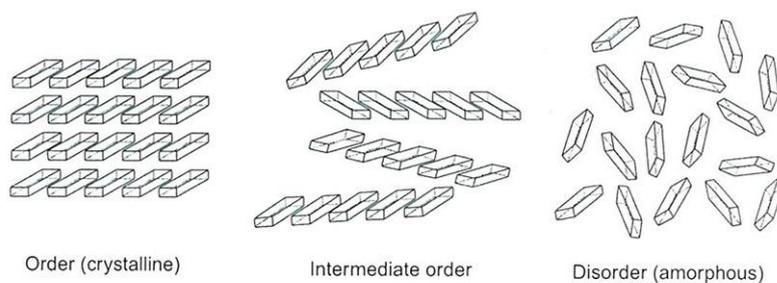
Substâncias, como benzodiazepinas, penicilinas e cefalosporinas são suscetíveis deste tipo de alteração (Yoshioka e Stella, 2002). As benzodiazepinas são classificadas como ansiolíticos, sedativos e hipnóticos, que atuam seletivamente no sistema nervoso central. As penicilinas tal como as cefalosporinas são antibióticos beta lactâmicos, que atuam inibindo a síntese da parede bacteriana (Caramona *et al.*, 2011).

## 2.2 Degradação física

Esta forma de decomposição pode ser detetada através de alterações nas propriedades organolépticas (cor, sabor, odor,...). Modificações físico-químicas na substância ativa, podem resultar numa diminuição da atividade terapêutica, assim como na formação de produtos tóxicos (Vadas, 2000, *cit. in* Murakami *et al.*, 2009; Lachman *et al.*, 2001).

### 2.2.1 Cristalização em fármacos amorfos

Nos fármacos amorfos, as moléculas não se encontram ordenadas segundo uma ordem específica (Figura 18) (Newman e Byrn, 2003; Raw *et al.*, 2004). É habitual, a tentativa de formular fármacos com baixa solubilidade em água no seu estado amorfo, isto porque a solubilidade é geralmente superior ao estado cristalino. Os fármacos no estado amorfo são química e fisicamente menos estáveis (Yoshioka e Stella, 2002; Newman e Byrn, 2003). Este processo de degradação pode ocorrer durante longos períodos de armazenamento e pode resultar em graves alterações nas características de libertação do fármaco, como no seu comportamento tóxico e farmacológico (Yoshioka e Stella, 2002).



**Figura 18** – Organização molecular nas formas farmacêuticas sólidas (Newman e Byrn, 2003).

### 2.2.2 Transição entre estados cristalinos

A estabilidade química das formas farmacêuticas sólidas pode ser afetada pelo estado cristalino do fármaco. Este estado caracteriza-se pelas suas moléculas estarem empacotadas e ordenadas de uma forma específica (Figura 18). Os diferentes estados cristalinos de um fármaco são designados como polimorfismo (Raw *et al.*, 2004; Melveger e Huynh-Ba, 2009). Devido às diferenças de energia livre e potenciais químicos, estas transições ocorrem, contudo convém referir, que dependem da temperatura e humidade (Yoshioka e Stella, 2002; Newman e Byrn, 2003; Oliveira *et al.*, 2011).

O polimorfismo pode incluir produtos solvatados ou hidratados (pseudopolimorfos) e forma amorfa (Raw *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2011). Os pseudopolimorfos podem ser definidos como formas cristalinas com moléculas de solvente como parte integrante da sua estrutura (Spong *et al.*, 2004).

Para valores de temperatura e humidade definidos, apenas uma das formas polimórficas, de um fármaco é estável, sendo as outras formas denominadas de metastáveis, formas instáveis, as quais se alteram a diferentes velocidades na forma estável (Oliveira *et al.*, 2011). Fármacos no estado cristalino possuem uma energia livre mais baixa, logo são menos reativos do que os fármacos amorfos que possuem níveis de energia livre mais elevados (Yoshioka e Stella, 2002).

A estabilidade de um produto pode ser afetada por uma diversidade de fatores, entre os quais, pela formulação, processo de produção e material de embalagem. Assim a estabilidade do medicamento ou do produto final torna-se mais importante do que propriamente a do princípio ativo, na determinação da qualidade do medicamento (Raw *et al.*, 2004).

É importante referir que cristais ramificados são mais propensos à ocorrência de hidrólise do que os cristais em forma de coluna como, acontece com, o ácido 5-nitroacetilsalicílico (Yoshioka e Stella, 2002).

As alterações provocadas devido ao polimorfismo, podem afetar a estabilidade e biodisponibilidade do medicamento (Raw *et al.*, 2004; Xie *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2011). Devido ao impacto do polimorfismo sobre o medicamento, é importante estabelecer critérios e métodos de forma a avaliar o estado cristalino mais estável em novos fármacos e medicamentos (ICH, 2003; Xie *et al.*, 2008).

### **2.2.3 Formação e crescimento de cristais**

Os cristais podem diminuir ou aumentar de tamanho. Fármacos ou excipientes em formas farmacêuticas sólidas, como comprimidos, podem recristalizar ou sublimar à superfície da forma farmacêutica durante a fase de armazenamento (Yoshioka e Stella, 2002).

### **2.2.4 Transferência de fase de vapor incluindo a sublimação**

Fármacos que contêm componentes que sublimam facilmente passam do estado sólido para o estado gasoso, podendo originar alterações no conteúdo do fármaco.

No caso da nitroglicerina, líquido com uma pressão de vapor significativa, os comprimidos sublinguais sofrem variações significativas no seu conteúdo durante o armazenamento, devido às migrações entre comprimidos através da fase de vapor (Banes, 1968 e Fusari, 1973, *cit. in* Yoshioka e Stella, 2002).

A nitroglicerina é classificada como vasodilatador e está indicada na angina de peito e como adjuvante no tratamento da insuficiência cardíaca (Caramona *et al.*, 2011).

### **2.2.5 Adsorção de humidade**

A adsorção de humidade durante a fase de armazenamento pode afetar a estabilidade física do medicamento, levando a alterações no seu aspeto e taxa de dissolução. A adsorção de humidade depende das propriedades físicas do princípio ativo e dos excipientes. Por exemplo, a adsorção de humidade pelos cristais de aspirina encontra-se

aumentada pela adição de excipientes hidrófilos (Mitrevej e Hollenbeck, 1983, *cit. in* Yoshioka e Stella, 2002).

### 3. Técnicas utilizadas para previsão da estabilidade

#### 3.1 Equação de Arrhenius

Para qualquer princípio ativo, em formas sólidas ou líquidas, originar um produto de degradação deve-se ter em consideração algumas combinações de colisões e reorganização molecular. Para grande parte dos processos de degradação química é necessário a presença de energia para ultrapassar a barreira de ativação, sendo essa energia designada como energia de ativação ( $E_a$ ), ou seja, a  $E_a$  é a energia mínima necessária para que ocorra uma reação. A combinação de moléculas irá originar uma distribuição de energia, a qual depende da temperatura. A temperatura mais elevada há um maior número de moléculas a produzir mais e melhor energia (Waterman, 2009).

Esta relação encontra-se descrita na equação sugerida por Arrhenius (Eq. 1), a qual permite determinar o efeito da temperatura na velocidade de degradação. Assim é possível prever a estabilidade de inúmeros fármacos, para uma temperatura normal de armazenamento a partir dos resultados obtidos com base em ensaios acelerados de estabilidade (Lachman *et al.*, 2001). Isto porque a energia de ativação é diretamente proporcional à estabilidade (Oliveira *et al.*, 2011).

$$K = K_0 e^{-E_a/(RT)} \quad (\text{Equação 1})$$

Sendo  $K$  a velocidade específica da reação,  $K_0$  o fator pré-exponencial a uma temperatura infinita,  $E_a$  é a energia de ativação,  $R$  a constante dos gases perfeitos, e  $T$  a temperatura absoluta (Waterman e Adami, 2005; Prista *et al.*, 2009).

Esta equação pode também ser descrita para que o fator pré-exponencial se encontre calculado para uma temperatura de referência finita, que é habitualmente a temperatura ambiente (Eq. 2).

$$K_T = K_{ref} e^{-E_a/R(1/T-1/T_{ref})} \quad (\text{Equação 2})$$

Em que  $K_T$  é a velocidade específica da reação à temperatura  $T$ ,  $K_{ref}$  o fator pré-exponencial à temperatura de referência, e  $T_{ref}$  a temperatura de referência, ambas em Kelvin.

A Tabela 3 mostra o efeito da alteração da temperatura em  $10^\circ\text{C}$  na constante de velocidade (Yoshioka e Stella, 2002). Se a  $E_a$  do processo de degradação for de apenas 10 kcal/mol, resulta num aumento da reatividade do fármaco em 1,76, mas se houver um aumento da  $E_a$  para 30 kcal/mol e de  $10^\circ\text{C}$ , a velocidade de degradação do fármaco aumenta 5,5 vezes.

**Tabela 3-** Efeito do aumento de  $10^\circ\text{C}$  ( $20^\circ\text{C}$  para  $30^\circ\text{C}$ ) na constante de velocidade de degradação de diversos fármacos, com diferentes valores de  $E_a$  (Yoshioka e Stella, 2002).

$E_a$ (kcal/mol)	$K_{T1}/K_{T2}$ ( $T1=20^\circ\text{C}$ , $T2=30^\circ\text{C}$ )
10	1,76
15	2,34
20	3,11
25	4,12
30	5,48

**Tabela 4-** Energia de ativação das reações de degradação de vários fármacos (Prista *et al.*, 2009).

<b>Fármaco</b>	<b>Ea (kcal/mol)</b>
n-acetil-p-aminofenol	20
Ácido ascórbico	18
Aspirina	16-23
Atropina	13-25
Barbital	11-16
Benzocaína	19
Cloranfenicol	20-35
Clorobutanol	19
Epinefrina	23
Ácido fólico	17-27
Glucose	31-32
Homatropina	11-13
Hidrocortisona	7-20
Nitrito de isoamilo	20
Metilprednisolona	14
Morfina	23
Nafazolina	5-16
Pantenol	20-21
Feneticilina	18
Prednisolona	11
Procaina	12-17
Riboflavina	20
Tiamina	13-19
Vitamina A	15-23
Vitamina B <sub>12</sub>	23-26

Os valores de  $E_a$  geralmente observados na degradação de diversos fármacos situam-se entre 10-30 kcal/mol (Tabela 4).

A equação de Arrhenius possui algumas limitações quando utilizada para prever a estabilidade a velocidades de degradação mais rápidas, podendo os resultados ser considerados inválidos ou incorretos (Woolfe e Worthington, 1974, *cit. in* Lachman *et al.*, 2001). Uma das limitações consiste em encontrar o intervalo de temperatura passível de ser aplicado nos estudos de estabilidade e onde a equação de Arrhenius é válida (Oliva *et al.*, 1996).

Formulações que contenham proteínas possuem complexos mecanismos de degradação, os quais podem variar a diferentes temperaturas, nestes casos, a utilização da equação de Arrhenius para prever a estabilidade não é aconselhada (Gu *et al.*, 1991, *cit. in* Oliva *et al.*, 1996; Oliva *et al.*, 2011). Em preparações de insulina, é possível aplicar a equação de Arrhenius a determinadas temperaturas. Após estudos realizados em soluções de insulina humana, verificou-se que a equação era válida entre 40°C e 60°C, apenas em estudos sem agitação (Oliva *et al.*, 2011).

### 3.2 Cinética das reações (ordem 0, 1 e 2)

A avaliação da cinética química e determinação da ordem das reações permite obter o perfil de degradação de um fármaco ou medicamento, ou seja, a sua concentração *versus* tempo (Murakami *et al.*, 2009).

Para uma melhor compreensão da cinética das reações, é relevante fazer uma breve introdução teórica. Posto isto, segundo Prista *et al.* (1990), a velocidade de uma reação é proporcional ao produto das concentrações dos reagentes, elevadas a um expoente, que é igual ao número de moléculas que intervém no fenómeno (Eq. 3).



$$V = K \times [A]^a \times [B]^b \quad (\text{Equação 3})$$

Sendo  $K$  a velocidade específica da reação.

A ordem de uma reação é a soma dos expoentes das concentrações das substâncias que intervêm na equação da velocidade (Prista *et al.*, 1990). É importante referir que algumas reações aparentam ser de determinada ordem, contudo são de ordem mais baixa (no caso de um dos reagentes estar em grande excesso), isto porque não depende da concentração de todos os reagentes (Prista *et al.*, 1990).

As reações podem ser classificadas como ordem zero, primeira ordem, pseudoprimeira ordem, segunda ou terceira ordem (Prista *et al.*, 2009).

A concentração dos reagentes e a variação da velocidade de reação podem ser definidas através da determinação da ordem de reação (Lachman *et al.*, 2001).

### Reações de ordem 0

A reação de ordem zero é caracterizada pela velocidade da reação ser independente da concentração e constante ao longo do tempo (Lachman *et al.*, 2001; Waterman e Adami, 2005; Cunha *et al.*, 2006) (Eq. 4).

$$-\frac{dC}{dt} = K \quad \text{(Equação 4)}$$

Integrando a equação 4, obtém-se a equação 5, em que  $C_0$  é a concentração inicial do produto ( $C = C_0$  para  $t=0$ ).

$$C = C_0 - K \times t \quad \text{(Equação 5)}$$

$K$  é a constante de velocidade de ordem zero,  $C$  a concentração do fármaco e  $t$  é o tempo.

O fator limitante destas reações são agentes externos, como por exemplo a luz, ou a solubilidade, neste caso, só a quantidade de fármaco presente em solução se degrada. Conforme o fármaco é degradado, a sua concentração em solução baixa, desta forma,

mais fármaco se dissolve, até que tenha reagido na sua totalidade. Assim, a reação de degradação não depende da totalidade de fármaco, mas, somente da quantidade presente em solução, o que resulta numa reação de ordem zero (Lachman *et al.*, 2001).

### Reações de primeira ordem

Ocorrem quando a velocidade de reação depende da concentração do reagente, sendo proporcional à mesma (Yoshioka e Stella, 2002; Waterman e Adami, 2005). A reação de primeira ordem encontra-se representada pela equação 6 e 7.

$$-\frac{dC}{dt} = K \times C \quad \text{(Equação 6)}$$

$$C = e^{-K(t+C_1)} \quad \text{(Equação 7)}$$

Após integração, e transformação logarítmica, obtém-se a equação 8:

$$\log\left(\frac{C}{C_0}\right) = \frac{-K}{2,303} \cdot t \quad \text{(Equação 8)}$$

Nas reações de ordem 1, K não é a velocidade da reação, mas sim a velocidade por unidade de concentração do produto (Prista *et al.*, 2009).

A maioria das proteínas, seguem uma ordem de reação de primeira ordem como por exemplo a insulina (Brange *et al.*, 1992, *cit. in* Oliva *et al.*, 1996).

### Reações de pseudoprimeira ordem

São reações de segunda ordem ou, uma reação bimolecular (depende da concentração de dois reagentes), que aparenta uma reação de primeira ordem. Isto ocorre quando um dos reagentes se encontra em grande excesso ou a sua concentração se mantém constante face ao outro reagente. Desta forma a velocidade de degradação é calculada

apenas por um dos reagentes, dado que durante a reação de degradação, o outro, não influencia de forma significativa na concentração do produto (Lachman *et al.*, 2001).

É possível observar este tipo de reações em vários fármacos no estado sólido (Lachman *et al.*, 2001).

### Reações de segunda ordem

Se a velocidade da reação for proporcional ao quadrado da concentração do produto, ou seja proporcional a dois reagentes semelhantes (Prista *et al.*, 1990), (Tipo I)  $A+A \rightarrow P$ :

$$-\frac{dC}{dt} = K \cdot C^2 \quad (\text{Equação 9})$$

$$C = -\frac{1}{K(t+C_1)} \quad (\text{Equação 10})$$

Após integração, obtém-se a equação 11.

$$\frac{1}{C} = \frac{1}{C_0} + K \cdot t \quad (\text{Equação 11})$$

Se a velocidade da reação for proporcional a dois reagentes diferentes (Tipo II),  $A+B \rightarrow P$ :

$$-\frac{dC}{dt} = K \cdot C_A \cdot C_B \quad (\text{Equação 12})$$

Após integração, obtém-se a equação 13.

$$\frac{C_A}{C_B} = \frac{C_{A0}}{C_{B0}} \cdot e^{[-(C_{A0}-C_{B0}) \cdot K \cdot t]} \quad (\text{Equação 13})$$

Sendo  $C_{A0}$  e  $C_{B0}$ ,  $C_A$  e  $C_B$  as concentrações do reagente A e B no tempo inicial e t, respetivamente.

Depois da determinação experimental da ordem de reação a utilizar, é possível extrapolar resultados. Para isso é necessário, como já foi referido anteriormente, valores de concentração *versus* tempo, a partir do instante inicial da reação. Através de métodos de medida pode-se concluir a ordem de reação a usar. Existem vários métodos, contudo só será referido um, o método dos tempos de semi-vida (Prista *et al.*, 1990).

### 3.3. Determinação do tempo de semi-vida de fármacos

A determinação do tempo de semi-vida pode ocorrer, segundo dois métodos, obtida através da extrapolação das mesmas condições e temperatura que as esperadas, para o produto final ou através de estudos acelerados. Estes últimos consistem, em submeter o produto a temperaturas elevadas durante um determinado período de tempo (40°C durante 6 meses), a uma energia de ativação constante e assim calcular à temperatura real de armazenamento o tempo de semi-vida do fármaco (Yoshioka e Stella, 2002).

O tempo de semi-vida é definido como a redução da concentração para metade do seu valor inicial (Prista *et al.*, 1990; Fernández *et al.*, 2001).

Para Ordem 0, será:

$$\frac{1}{2}C_0 = -K \times t_{\frac{1}{2}} + C_0 \quad (\text{Equação 14})$$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{C}{2K} \quad (\text{Equação 15})$$

Para Ordem 1, é:

$$\log\left(\frac{1}{2}C_0/C_0\right) = -\left(\frac{K}{2,303}\right) \times t_{\frac{1}{2}} \quad (\text{Equação 16})$$

$$t_{\frac{1}{2}}^1 = -\frac{2,303}{K} \cdot \log \frac{1}{2} \quad (\text{Equação 17})$$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{0,693}{K} \quad (\text{Equação 18})$$

Para Ordem 2, é:

$$\frac{C_0}{2} = \frac{C_0}{1+K C_0 \times t_{\frac{1}{2}}} \quad (\text{Equação 19})$$

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{1}{K \times C_0} \quad (\text{Equação 20})$$

#### 4. Determinação do prazo de validade

Prazo de validade corresponde ao tempo que um medicamento segundo condições específicas de armazenamento mantém o teor de substância ativa, a qualidade e pureza, dentro das especificações estipuladas (Komka e Kemeny, 2004; Houri *et al.*, 2009, *cit. in* Oriqui *et al.*, 2011). Pode também ser definido como o tempo máximo em que o medicamento, após a sua preparação, apresenta estabilidade. Posto isto, a perda de princípio ativo não deve exceder os 10% ou 15%, quando armazenado sob determinadas condições (Prista *et al.*, 1990; Leite, 2005).

Os prazos de validade dividem-se em curto, médio e longo prazo, o que corresponde respetivamente a seis meses, um ano e superiores a dois anos (Prista *et al.*, 1990).

Uma das principais condições de armazenamento a ter em conta é a temperatura, como esta varia frequentemente, foi instituído que seja de 25°C ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) (Prista *et al.*, 2009)

Devido à facilidade e rapidez com que se determina a velocidade específica de degradação e a respetiva ordem de reação, torna-se simples estabelecer o prazo de validade de um determinado medicamento (Prista *et al.*, 2009).

Supondo que  $C_0$  é a quantidade inicial de princípio ativo,  $C$  a quantidade final,  $K$  a velocidade específica de degradação e  $t_m$  o prazo de validade, é possível calcular o prazo de validade de um dado medicamento, através das seguintes equações:

$$t_m = \frac{C_0 - C}{K} \quad (\text{Equação 21})$$

$$t_m = \frac{2,303}{K} \cdot \log \frac{C_0}{C} \quad (\text{Equação 22})$$

$$t_m = \frac{C_0 - C}{C_0 \cdot C \cdot K} \quad (\text{Equação 23})$$

Que deve aplicar-se quando a degradação do fármaco ocorre segundo ordem zero (Equação 15), primeira (Equação 18) e segunda ordem (Equação 20), respetivamente.

Os estudos de estabilidade e de determinação do prazo de validade de um medicamento, podem ser realizados segundo estudos a longo prazo, estudos acelerados, estudos intermediários ou de acompanhamento e caso necessário, por estudos de degradação forçada ou de *stress* (Tabela 5) (Simon *et al.*, 2004; Isaac *et al.*, 2008; Oriqui *et al.*, 2011; Oliva *et al.*, 2012).

Os estudos a longo prazo permitem determinar as características químicas, físicas e microbiológicas de um medicamento durante e após o prazo de validade. Os efeitos observados permitem confirmar o prazo de validade já estipulado, como também, sugerir condições de armazenamento (Komka e Kemeny, 2004; Silva *et al.*, 2009; Oriqui *et al.*, 2011). Durante o estudo, as amostras devem ser armazenadas a uma temperatura de  $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  a 60% de humidade relativa  $\pm 5\%$  ou a  $30^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  a 65% de humidade relativa  $\pm 5\%$  durante 12 meses (ICH, 2003; Isaac *et al.*, 2008).

Os estudos acelerados, tem como objetivo acelerar a degradação química e/ou física a condições elevadas de temperatura, humidade, luz e/ou outros fatores capazes de afetar a estabilidade dos medicamentos (Isaac *et al.*, 2008; Silva *et al.*, 2009; Oriqui *et al.*, 2011). Neste caso, as amostras devem ser armazenadas a uma temperatura de  $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  a 75% de humidade relativa  $\pm 5\%$  durante 6 meses (ICH, 2003; Isaac *et al.*, 2008). Os resultados obtidos nestes estudos e nos de longa duração, servem para prever os efeitos em condições não aceleradas, como também a curtas exposições que não as estabelecidas no rotulo, que podem ocorrer durante o transporte dos medicamentos (Silva *et al.*, 2009; Oriqui *et al.*, 2011).

Os estudos intermediários servem como confirmação para os resultados obtidos nos estudos de longa duração (Silva *et al.*, 2009; Oriqui *et al.*, 2011). Estes devem ocorrer a uma temperatura de  $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  e a uma humidade relativa de  $65\% \pm 5\%$  durante 6 meses (ICH, 2003).

Os estudos em condições de *stress* realizam-se sob condições extremas, ou seja, utilizam-se condições mais severas do que nos testes acelerados (Silva *et al.*, 2009). No entanto, estes estudos podem não ser necessários, se for demonstrado através dos estudos de longa duração e acelerados que não ocorre degradação do medicamento (ICH, 2003; Silva *et al.*, 2009). No caso de estes estudos serem realizados, o ICH preconiza que os estudos de estabilidade realizados através de condições de *stress* servem para determinar as características de estabilidade inerentes ao princípio ativo. Estes estudos, incluem testes para avaliar a estabilidade hidrolítica, oxidativa e fotolítica (Akhtar *et al.*, 2012).

**Tabela 5-** Diferentes estudos (ICH, 2003).

Estudo	Condições de armazenamento	Duração do estudo
Longa duração	$25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/60\% \text{ HR} \pm 5\% \text{ HR}$ ou $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/65\% \text{ HR} \pm 5\% \text{ HR}$	12 meses
Intermediário	$30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/65\% \text{ HR} \pm 5\% \text{ HR}$	6 meses
Acelerado	$40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/75\% \text{ HR} \pm 5\% \text{ HR}$	6 meses

As condições normais de armazenamento são as condições ambientais a que os medicamentos estarão expostos durante os estudos de longa duração e intermediários (Oriqui *et al.*, 2011).

Com o crescimento do comércio a nível internacional, a especialização das empresas na produção e com a racionalização da produção de medicamentos, o que está implicado na caracterização de globalização, tornou-se imprescindível saber qual o comportamento das formas farmacêuticas nas diferentes áreas do planeta (Zanin *et al.*, 2001). Assim por uma questão de simplicidade, as condições ambientais foram divididas em cinco zonas que correspondem às zonas climáticas do planeta, de acordo com critérios de temperatura de cinética média e humidade relativa (Tabela 6) (Leite, 2005; Oriqui *et al.*, 2011).

**Tabela 6-** Zonas climáticas do planeta, respetiva temperatura e humidade relativa (Oriqui *et al.*,2011; WHO, 2012).

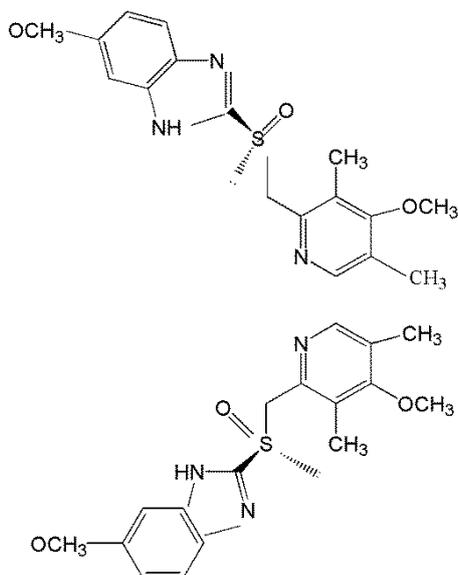
Zona	Temperatura média	Humidade relativa
Zona I (temperado)	21°C	45%
Zona II (subtropical)	25°C	60%
Zona III (quente e seco)	30°C	35%
Zona IV a (quente e húmido)	30°C	65%
Zona IV b (quente e muito húmido)	30°C	75%

## 5. Estudos

### 5.1 Estudo da estabilidade de comprimidos Gastro-Resistentes de Omeprazol

Murakami *et al.* (2009), realizou um estudo de estabilidade a comprimidos gastro-resistentes contendo 20 mg de Omeprazol. Este estudo teve como objetivo avaliar a estabilidade física e química de comprimidos sem revestimento (SR) e comprimidos revestidos (R1 e R2). Estes foram submetidos à temperatura e humidade relativa ambiente, a uma temperatura de 40°C e a uma humidade relativa de 75% e à luz ultravioleta, durante um período de 180 dias.

O Omeprazol (Figura 19) é um protetor gástrico, que pertence à classe dos inibidores da bomba de prótons, está indicado no tratamento de úlcera péptica e esofagite de refluxo (Caramona *et al.*, 2012).



**Figura 19-** Estrutura química do Omeprazol.

Este fármaco caracteriza-se por ser sensível ao calor, humidade e luz, decompõe-se rapidamente a valores de pH inferiores a 5,0, possui uma maior estabilidade a valores de pH alcalinos.

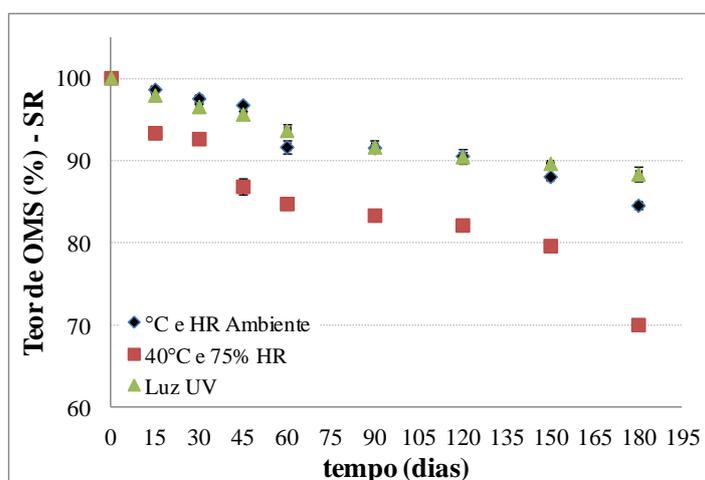
O princípio ativo e os excipientes, assim como as quantidades utilizadas, encontram-se representados na Tabela 7.

**Tabela 7** – Constituintes da formulação dos comprimidos de Omeprazol (Murakami *et al.*, 2009).

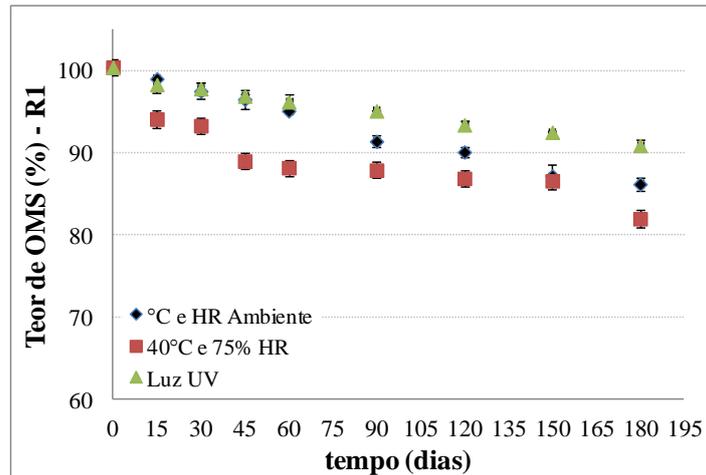
Matéria - prima	mg/ comprimido	%
Omeprazol sódico	22,08	12,57
Estearato de magnésio	2,7	1,5
Glicolato de amido de sódio	5,4	3
Dióxido de silício coloidal	1,8	2
Carbonato de sódio	45	25
Celulose microcristalina	103,02	57,23
<b>Total</b>	<b>180</b>	<b>100</b>

Para o pré-revestimento foi utilizado o polímero Opadry® YS HP 85F18422 e posteriormente para o revestimento entérico, o co-polímero do ácido metacrílico tipo C (Acryl-Eze™) 93092052 branco WP573729. Para o revestimento R1 foi utilizado 2,5% do polímero Opadry® YS e 10% do polímero entérico, para o revestimento R2 usou-se dispersão de 8% do polímero Opadry® YS e 12% do polímero entérico (Murakami *et al.*, 2009).

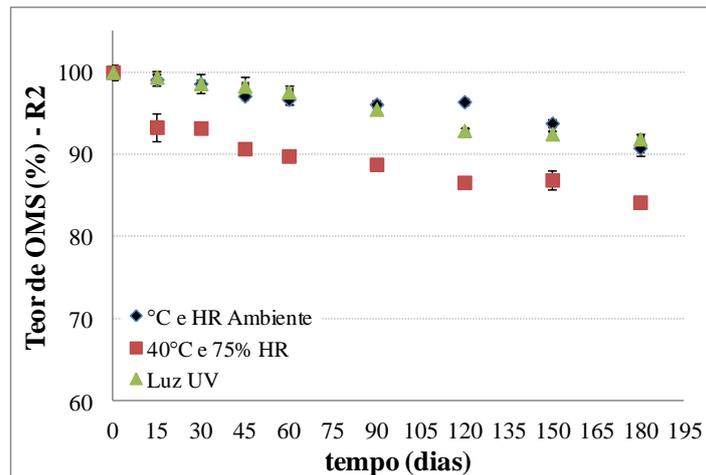
O comportamento das três formulações relativas à utilização de revestimentos distintos (3 réplicas para cada formulação) foi avaliado no dia 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 e 180. Os resultados obtidos encontram-se representados nas Figuras 20, 21 e 22 (Tabela 1A, Anexo).



**Figura 20-** Valores de teor residual de Omeprazol (%) obtidos para a formulação sem revestimento (SR). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (Fonte: Murakami *et al.*, 2009).



**Figura 21-** Valores de teor residual de Omeprazol (%) obtidos para a formulação com revestimento 1 (R1). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (Fonte: Murakami *et al.*, 2009).



**Figura 22-** Valores de teor residual de Omeprazol (%) obtidos para a formulação com revestimento 2 (R2). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (Fonte: Murakami *et al.*, 2009).

De acordo com os resultados obtidos para as diferentes condições de temperatura, humidade e luz ultravioleta (Figuras 20 a 22), verifica-se que os valores de degradação foram superiores quando o fármaco foi exposto a uma temperatura de 40°C e a uma humidade relativa de 75%. Sendo a formulação que não possuía revestimento a mais afetada, com uma redução do teor em 30%, seguida da formulação R1 em 18% e por último a R2 com uma redução de 16% (Murakami *et al.*, 2009).

As formulações quando submetidas às condições normais do ambiente exibem uma menor degradação, em comparação com as outras condições, assim é possível concluir

que o fármaco apresenta menor estabilidade face ao aumento da temperatura e humidade relativa. Relativamente à luz ultravioleta, as formulações apresentam redução do seu teor, mas com menor intensidade do que quando expostas à humidade. No estudo realizado observou-se que a humidade foi o fator extrínseco que mais acelerou os processos de degradação, sendo as reações de hidrólise as mais notáveis (Murakami *et al.*, 2009).

Em formulações contendo Omeprazol é necessário a utilização de revestimento, pois diminui a superfície de contacto do princípio ativo com o ar, humidade e luz. A utilização de uma pré-capa com polímero com caráter neutro (hidroxipropilmetilcelulose), promove a integridade do fármaco (Murakami *et al.*, 2009).

O perfil de degradação ou de concentração-tempo, foi determinado através da cinética química e ordem das reações. Com os valores obtidos de teor de Omeprazol para as diferentes condições, o autor linearizou os dados, de forma a facilitar a obtenção da ordem das reações. Testou modelos de ordem zero ( $C^t$ ), primeira ordem ( $\log C^t$ ) e segunda ordem ( $1/C^t$ ). A escolha do modelo mais adequado foi realizada através do coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ), para a situação em que a correlação linear entre tempo e concentração “linearizada” foi melhor (dados não reportados).

O autor considerou que a reação que melhor descrevia a degradação do fármaco foi a de segunda ordem. De fato, não é possível realizar os cálculos que dão origem aos resultados reportados, pois os valores fornecidos não são os das 3 réplicas e sim os da média e desvio-padrão, sendo que esta situação (de utilização de médias) pode mascarar visualmente a tendência observada, embora seja a forma adequada de mostrar o resultado final obtido.

O cálculo da constante de velocidade ( $K$ ), do tempo de semi-vida ( $t_{1/2}$ ) e da redução do fármaco para 90% ( $t_{90\%}$ ) foi realizado através das equações sumariadas na Tabela 8.

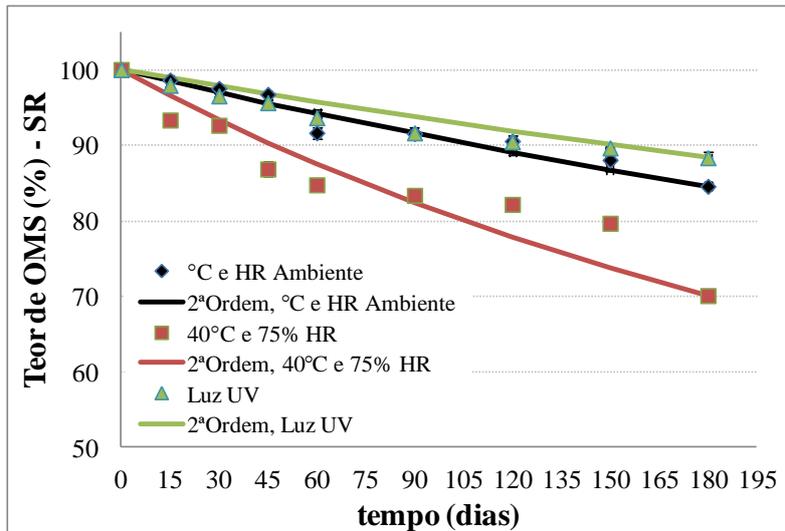
Substituindo os valores de velocidade de reação determinados pelo autor para uma reação de segunda ordem (Tabela 9) na Equação 11, e considerando que a concentração inicial do fármaco (em %) é de 100%, é possível visualizar, nas Figuras 23 a 25, a adequação desta ordem de reação à real degradação do teor de Omeprazol (visualização não fornecida no artigo referenciado).

**Tabela 8** – Equações utilizadas para o cálculo da degradação do fármaco (Murakami *et al.*, 2009).

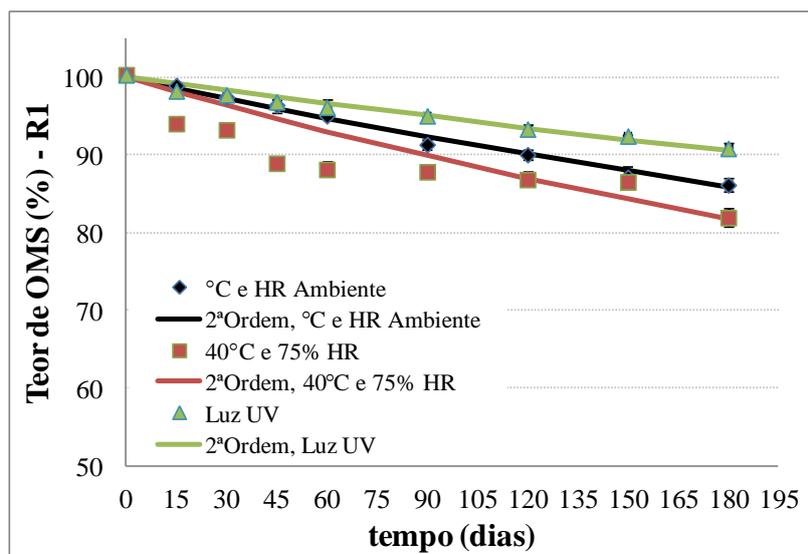
Ordem de reação	K (dias <sup>-1</sup> )	t <sub>1/2</sub> (dias)	t <sub>90%</sub> (dias)
Segunda ordem	$\frac{1}{t} \times \left( \frac{1}{C} - \frac{1}{C_0} \right)$	$\frac{1}{kC_0}$	$\frac{1}{9k \times C_0}$

**Tabela 9** – Valores de k e t<sub>90%</sub> obtidos, utilizando as equações de segunda ordem (Murakami *et al.*, 2009).

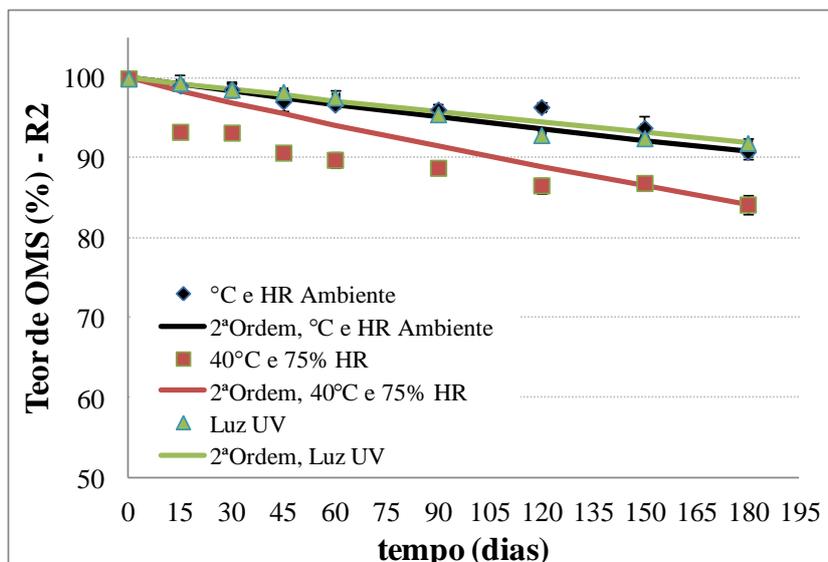
Condições	Formulação	k (dias <sup>-1</sup> )	t <sub>90%</sub> (dias)	t <sub>1/2</sub> (dias)
°C e HR ambiente	SR	1,016 x 10 <sup>-5</sup>	109	982
	R1	9,115 x 10 <sup>-6</sup>	121	1.092
	R2	5,623 x 10 <sup>-6</sup>	198	1,778
45°C e 75% HR	SR	2,376 x 10 <sup>-5</sup>	34	408
	R1	1,241 x 10 <sup>-5</sup>	49	766
	R2	1,042 x 10 <sup>-5</sup>	61	950
Luz UV	SR	7,345 x 10 <sup>-6</sup>	151	1,360
	R1	5,783 x 10 <sup>-6</sup>	191	1,722
	R2	4,891 x 10 <sup>-6</sup>	227	2,044



**Figura 23-** Valores de teor residual de Omeprazol (%) (pontos) obtidos para a formulação sem revestimento (SR) e valores previstos pela reação de 2ª ordem (linha). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (adaptado de Murakami *et al.*, 2009).

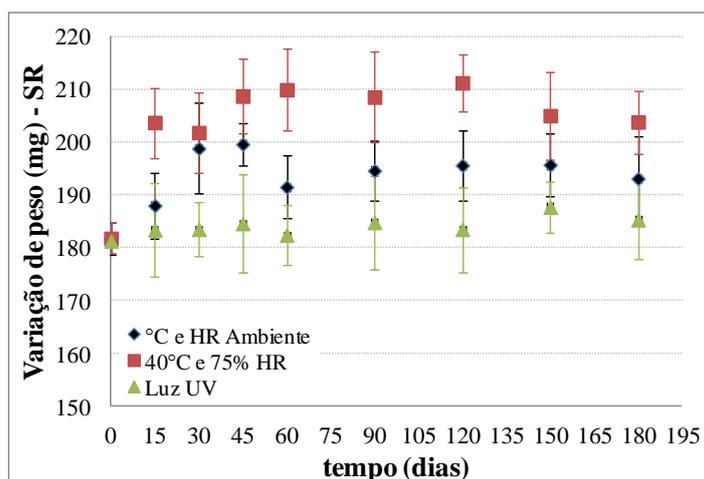


**Figura 24-** Valores de teor residual de Omeprazol (%) (pontos) obtidos para a formulação com revestimento 1 (R1) e valores previstos pela reação de 2ª ordem (linha). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (adaptado de Murakami *et al.*, 2009).

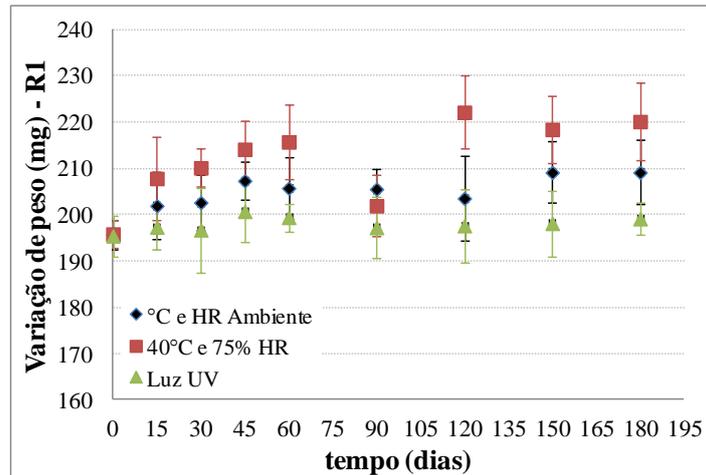


**Figura 25-** Valores de teor residual de Omeprazol (%) (pontos) obtidos para a formulação com revestimento 2 (R2) e valores previstos pela reação de 2ª ordem (linha). Os pontos representam a média de três determinações/réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (adaptado de Murakami *et al.*, 2009).

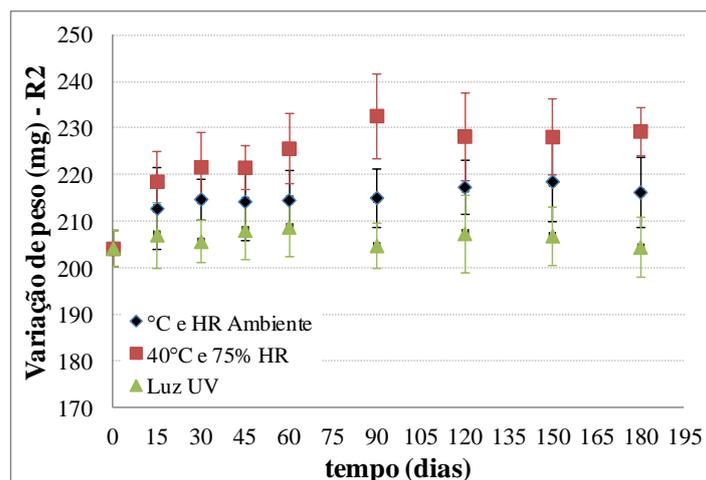
A integridade física foi avaliada através da determinação da variação de peso ao longo dos 180 dias e por alterações na aparência física, cor e odor (Murakami *et al.*, 2009). Foi calculada a média do peso de 10 comprimidos no tempo zero e decorrentes intervalos de tempo, estando estes representados nas Figuras 26 a 28 (Tabela 2A, Anexo).



**Figura 26-** Valores de variação de peso (mg) obtidos para a formulação sem revestimento (SR). Os pontos representam a média de 10 réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (calculado a partir do desvio padrão relativo) (Fonte: Murakami *et al.*, 2009).



**Figura 27-** Valores de variação de peso (mg) obtidos para a formulação com revestimento 1 (R1). Os pontos representam a média de 10 réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (calculado a partir do desvio padrão relativo) (Fonte: Murakami *et al.*, 2009).



**Figura 28-** Valores de variação de peso (mg) obtidos para a formulação com revestimento 1 (R1). Os pontos representam a média de 10 réplicas em 3 condições de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (calculado a partir do desvio padrão relativo) (Fonte: Murakami *et al.*, 2009).

Após observação dos valores obtidos, é possível concluir que em todas as formulações ocorreu um aumento de peso, de cerca de 14 mg, 28 mg e 6 mg quando submetidos às diferentes condições (Figuras 23 a 25). Verificou-se um aumento significativo do peso, quando os comprimidos foram expostos a uma humidade relativa de 75%, nomeadamente mais visível nos que não apresentavam revestimento (SR) (Murakami *et*

*al.*, 2009). Estes valores estão de acordo com os valores obtidos para a degradação do fármaco apresentados nas Figuras 20 a 22, pois a presença de um elevado teor de humidade acelera a degradação do fármaco, provocando alterações nas propriedades físicas.

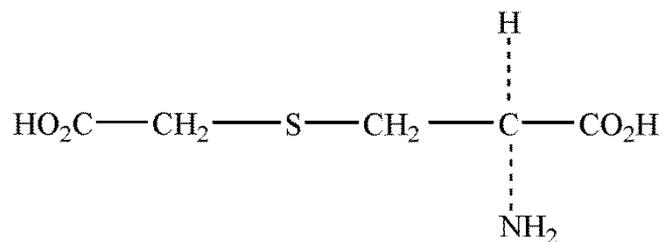
Relativamente à cor dos comprimidos, o autor verificou alterações relativas ao escurecimento da cor para uma coloração amarelada, principalmente quando expostos a condições forçadas de temperatura e humidade relativa (Murakami *et al.*, 2009).

Os resultados obtidos neste estudo indicaram que a formulação mais adequada e a que assegurou melhor as características do fármaco foi a formulação R2.

## 5.2 Determinação do prazo de validade do medicamento carbocisteína xarope através do método de Arrhenius

Segundo Manfio *et al.* (2007), foi realizado um estudo para a determinação do prazo de validade de um xarope de carbocisteína através do método de Arrhenius.

A carbocisteína (Figura 29) é classificada como antitússico e expetorante, utilizada como adjuvante em infeções do trato respiratório (Caramona *et al.*, 2011).



**Figura 29** – Estrutura química da carbocisteína.

O princípio ativo utilizado foi a carbocisteína anidra, e os excipientes usados foram, a sacarina sódica, o ácido cítrico, o metilparabeno, o hidróxido de sódio, o ciclamato de

sódio, a glicerina, o álcool etílico, a essência de canela, a essência de rum, o corante de caramelo, a água desionizada (Manfio *et al.*, 2007).

Para avaliação da estabilidade do xarope, as amostras foram submetidas a estudos de estabilidade acelerada, com o objetivo de determinar o prazo de validade, tendo os autores optado pela utilização do método de Arrhenius. Os parâmetros avaliados foram as propriedades organolépticas, o pH, o teor em carbocisteína e a presença de contaminantes microbiológicos (Manfio *et al.*, 2007).

As amostras foram submetidas a temperaturas de 40°C, 50°C, 60°C e 70°C, todas avaliadas no tempo zero e, depois, cada amostra foi avaliada individualmente em diferentes tempos: a amostra sujeita a uma temperatura de 40°C avaliou-se ao dia 72, 81, 90, 100 e 120 dias, à temperatura de 50°C ao dia 12, 24, 54, 72, 84 e 96, a 60°C ao dia 3, 6, 12, 18, 27 e 30 e, por último, a amostra sujeita a 70°C foi avaliada no dia 3, 5, 9, 11, 15 e 21 (Manfio *et al.*, 2007).

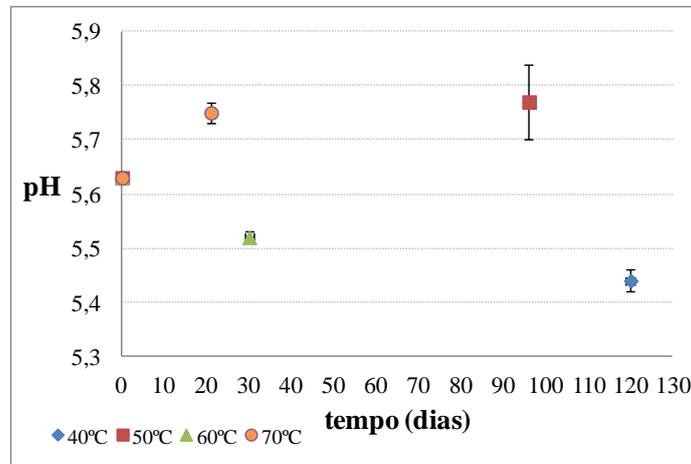
As amostras consistiam em três frascos de xarope (3 réplicas verdadeiras) que foram analisados em duplicado (constituindo um total de 6 valores replicados), para cada tempo e temperatura de armazenamento (Manfio *et al.*, 2007).

Relativamente às características organolépticas, verificou-se uma alteração de cor, do amarelo da formulação inicial, para castanho-escuro, e uma mudança no odor inicial de canela e rum para um odor desagradável. Nenhuma destas alterações nos parâmetros organolépticos foi quantificada, apenas foi observada visualmente ou odorificamente (Manfio *et al.*, 2007).

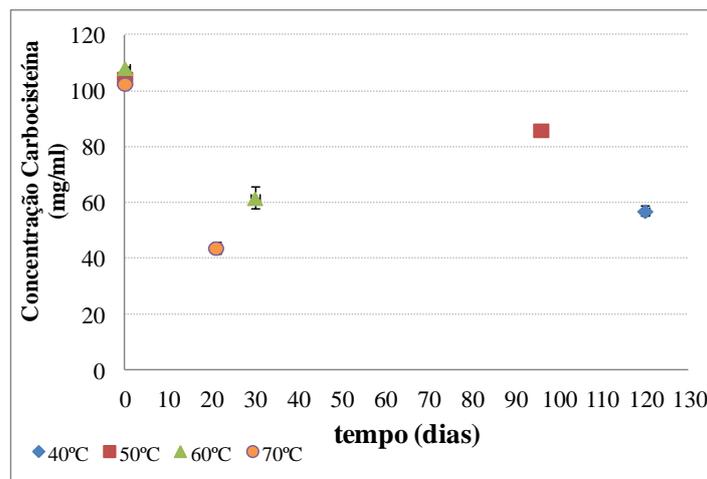
Os valores indicados na Figura 30 (Tabela 3A, Anexo) correspondem à análise de pH das amostras quando sujeitas à temperatura de 40°C, 50°C, 60°C e 70°C (mas os autores apenas reportaram a média, e respetivo desvio padrão, de valores obtidos no tempo zero e no último dia de seguimento).

Tal como já foi referido, as amostras eram constituídas por três frascos de xarope, que foram analisados todos em duplicado. Os resultados de concentração de carbocisteína

(mg/ml) expressos na Figura 31 (Tabela 4A, Anexo) representam a média das três amostras e o respetivo desvio padrão.



**Figura 30-** Valores de pH obtidos para o xarope de carbocisteína. Os pontos representam a média de 3 réplicas em 4 temperaturas de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão ( Fonte: Manfio *et al.*, 2007).



**Figura 31-** Valores de concentração de carbocisteína (mg/ml) obtidos para o xarope de carbocisteína. Os pontos representam a média de 10 réplicas em 4 temperaturas de armazenamento distintas e as barras representam o desvio padrão (Adaptado de: Manfio *et al.*, 2007).

Após a obtenção dos valores de teor em carbocisteína, os autores traçaram gráficos (concentração *versus* tempo (ordem zero), log da concentração *versus* tempo (ordem 1) e inverso de concentração *versus* tempo (ordem 2)) para cada temperatura, de forma a determinar a ordem de reação de degradação. Determinaram, com ajuda do coeficiente

de determinação ( $R^2$ ) que a melhor ordem de reação era a 1ª ordem (em média, para as 4 temperaturas, o  $R^2$  foi de 0,9457).

Os valores obtidos dos declives das retas (K) dos gráficos da relação tempo *versus* log da concentração foram utilizados para determinar o prazo de validade do medicamento (Tabela 10).

**Tabela 10-** Valores de K obtidos para a reação de 1ª ordem (Manfio *et al.*, 2007).

Temperatura (°C)	K
40	0,0019
60	0,0076
70	0,0186

Os valores obtidos das amostras submetidas a uma temperatura de 50°C foram excluídos, devido a baixa degradação do princípio ativo durante o período de armazenamento, sendo visível na Figura 31 que a taxa de degradação não segue o padrão observado para as restantes temperaturas inferior e superiores.

A determinação da energia de ativação ( $E_a$ ) da reação foi calculada através da equação de Arrhenius (Equação 24 (linearizada a partir da Equação 2, com  $T_2=T_{ref}=25^\circ\text{C}$ )):

$$\log \frac{K_2}{K_1} = -\frac{E_a}{2,303R} \times \left( \frac{T_2 - T_1}{T_2 \times T_1} \right) \quad (\text{Equação 24})$$

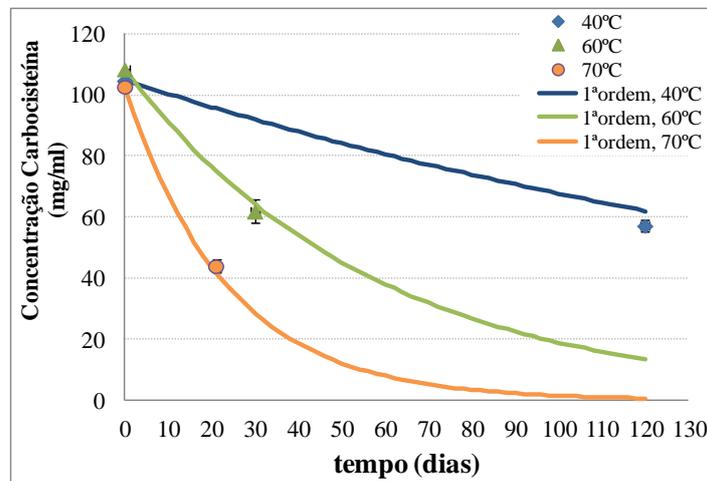
A partir da média obtida da energia de ativação, com auxílio da equação de Arrhenius, foi determinada a constante de degradação a 25°C ( $k_{25}$  – determinado com base nas constantes de degradação a 40, 60 e 70°C). A constante  $K_1$  foi substituída por uma das constantes de degradação K, calculadas anteriormente.

Os valores obtidos foram:

- $E_a \text{ MÉDIO} = 16.943,56$
- $K_{25} = 0,00044$

Da junção da Equação 24 com a Equação 8, resultando na Equação 25, e utilizando os valores de  $E_a = 16.943,56$ ,  $K_{25} = 0,00044$ ,  $R = 1,987$  (constante dos gases perfeitos) e temperatura em graus Kelvin, foi possível estabelecer que a degradação de carbocisteína no xarope segue o perfil que se mostra na Figura 32, para as temperaturas 40, 60 e 70°C. A previsão para a temperatura de 50°C não foi realizada.

$$C = C_0 e^{(-K_{25} e^{-E_a/R(1/T-1/T_{25})}) \cdot t} \quad (\text{Equação 25})$$



**Figura 32-** Ajuste da cinética de 1ª ordem à degradação da concentração de carbocisteína (mg/ml) obtidos para o xarope de carbocisteína (Eq. 25), a 3 temperaturas de armazenamento distintas. Os pontos representam a média de 10 réplicas distintas e as barras representam o desvio padrão (Fonte: Manfio *et al.*, 2007); As linhas representam a cinética de 1ª ordem ajustada aos dados.

Posteriormente foi calculado o prazo de validade do xarope, a partir da cinética de degradação. Como a cinética utilizada foi de primeira ordem, este foi determinado através do cálculo de  $t_{90\%}$ , segundo a seguinte expressão:

$$t_{90\%} = \frac{0,106}{K_{25}}$$

O valor obtido de  $t_{90\%}$  foi de:

- $t_{90\%} = 240,90$  dias (aproximadamente 8 meses)

Após a realização do estudo, foi possível concluir que o xarope quando exposto a condições de temperaturas elevadas apresenta, alterações significativas não só no teor de carbocisteína, mas também, na cor e odor da formulação. A cinética de degradação deste princípio ativo corresponde a uma cinética de pseudo-primeira ordem. O prazo de validade determinado, não corresponde ao indicado na embalagem (2 anos), contudo os estudos de estabilidade através de estudos acelerados são um utensílio importante para determinação do prazo de validade, realçando a importância da realização de estudos de longa duração para determinação do prazo de validade definitivo do medicamento.

### **III- Conclusão**

Visto que nenhum produto é indeterminadamente estável, é responsabilidade do produtor estabelecer as características de estabilidade do mesmo. Os testes de estabilidade desempenham assim, um papel fulcral no desenvolvimento de formas farmacêuticas, papel que é reconhecido pela indústria farmacêutica, a qual tem por obrigação assegurar a segurança e qualidade dos medicamentos, como controlar a sua execução. Os estudos de estabilidade constituem um requisito para a introdução de novos fármacos no mercado, fornecendo certezas de como a qualidade do produto varia sob influência de diversos fatores, sejam estes ambientais ou fatores internos, permitem estipular o prazo de validade dos medicamentos e se estes mantem as suas características originais de acordo com as especificações de pureza, qualidade e potência, como também, possibilitam recomendar quais as condições de armazenamento mais adequadas ao respetivo produto.

Os estudos de estabilidade ocorrem fundamentalmente utilizando estudos a longo prazo e estudos acelerados (que ainda assim demoram tempo) os quais fornecem dados sobre a relação entre a cinética em condições de armazenamento habituais/ideais e condições que promovem uma degradação acelerada, que são necessários para a avaliação do medicamento. Com recurso à cinética da reação de um ou mais princípios ativos, habitualmente cinética química, e à equação de Arrhenius que relaciona a temperatura com a velocidade de reação, e considerando o parâmetro que mais rapidamente se degrada abaixo de limites considerados adequados, é possível de uma forma simplificada e rápida, prever o que ocorre em condições ideais de armazenamento a partir de dados obtidos em estudos acelerados, ou seja, prever, estipular ou confirmar, o prazo de validade do medicamento.

## Bibliografia

- Akhtar, N., Talegaonkar, S., Khar, R.K., Jaggi M. (2012). A validated stability-indicating LC method for estimation of etoposide in bulk and optimized self-nano emulsifying formulation: kinetics and stability effects, *Saudi Pharmaceutical Journal*, pp. 1-9.
- Allen, L.V., Popovich, N.G., Ansel, H.C. (2005). *Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. 8ª edição. New York, Lippincott Williams & Wilkins, pp. 249-280.
- Ansel, H.C., Loyd, V.A., Popovich, N.G. (1999). *Pharmaceutical dosage forms and drug delivery Systems*. 7ª edição. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, pp.595.
- Bandelin, F.J., Tuschhoff, J.V. (1955). The stability of ascorbic acid in various liquid media, *Journal of the American Pharmacists Association*, 44, pp. 241-244.
- Banes, D. (1968). Deterioration of nitroglycerin tablets, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 57, pp. 893-894.
- Beezer, A.E., Gaisford, S., Hills, A.K., Willson, R.J., Mitchell, J.C. (1999). Pharmaceutical microcalorimetry: applications to long-term stability studies, *International Journal of Pharmaceutics*, 179, pp. 159-165.
- Brange, J., Langkjaer, L., Havelund, S., Volund, A. (1992). Chemical stability of insulin 1. Hydrolytic degradation during storage of pharmaceutical preparations, *Pharmaceutical Research*, 9, pp. 715-726.
- Caramona, M., Esteves, A.P., Gonçalves, J., Macedo, T., Mendonça, J., Osswald, W., Pinheiro, R.L., Rodrigues, A., Sampaio, C., Sepades, B., Teixeira, A.A. (2011). *Prontuário terapêutico - 10*. Infarmed.
- Castello, R.A., Mattocks, A.M. (1962). Discoloration of tablets containing amines and lactose, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51, pp. 106-108.

Cunha, L.M., Manso, M.C., Oliveira, F.A.R. (2006). Kinetics of quality and safety indicators under study conditions – Basic Concepts. *In: Hui, Y.H. (Ed.). Handbook of food science, technology and engineering*. Taylor & Francis, pp. 141-3- 141-17.

Decreto-Lei nº 176/2006 de 30 de Agosto [Em linha]. Disponível em <[http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/LEGISLACAO/LEGISLACAO\\_FARMACEUTICA\\_COMPILADA/TITULO\\_III/TITULO\\_III\\_CAPITULO\\_I/035-E\\_DL\\_176\\_2006\\_VF.pdf](http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/LEGISLACAO/LEGISLACAO_FARMACEUTICA_COMPILADA/TITULO_III/TITULO_III_CAPITULO_I/035-E_DL_176_2006_VF.pdf)>. [Consultado em 04/10/2012].

Enders, J.E. (2000). Garantia y control de calidad. *In: Gennaro, A.R., Marderosian, A., Hanson, G.R., Madwick, T., Popovich, N.G., Schnaare, R.L., Schwartz, J.B., White, H.S. Remington farmacia*. 20ª edição. Madrid, Editorial Medica Panamericana, pp. 1137-1154.

Felton, L.A., Shah, N.H., Zhang, G., Infeld, M.H., Malick, A.W., Meginity, J.W. (1996). Physical-mechanical properties of film-coated soft gelatin capsules, *International Journal of Pharmaceutics*, 127 (2), pp. 203-211.

Fernández, M.A., Méndez, J.B., Martínez, P.B., Charro, M.B.D., Alegre, M.E.G., Amoza, J.L.G., Navarro, M.G., Domínguez, M.H., Ballesteros, M.R.J.C., Perales, M.C.M., Ruiz, A.M., Espinar, F.J.O., Marcos, M.B.P. (2001). *Tecnologia farmaceutica aspectos fundamentales de los sistemas farmaceuticos y operaciones básicas*. I volume. 1ª edição. Madrid, Editorial Sintesis.

Fusari, S.A. (1973). Nitroglycerin sublingual tablets I: stability of conventional tablets, *Journal Pharmaceutical Sciences*, 62, pp. 122-129.

Gold, G., Campbell, J.A. (1964). Effects of selected U.S.P. Talcs on acetylsalicylic acid stability in tablets, *Journal Pharmaceutical Sciences*, 53, pp. 52-54.

Grimm, W. (1998). Extension of the International Conference on Harmonization tripartite guideline for stability testing of new drug substances and products to countries of climatic zones III and IV, *Drug Development Industry Pharmacy*, 24 (4), pp. 313-325.

Gu, L.C., Erdos, E.A., Chiang, H.S., Calderwood, T., Tsai, K., Visor, G.C., Duffy, J., Hsu, W., Foster, L. (1991). Stability of interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) in aqueous solution:

analytical methods, kinetics, products and solution formulation implication, *Pharmaceutical Research*, 8, pp. 485-490.

Houri, J.J., Hoang, M.D.L., Berleur, M.P., Calvez, S., Grafard, H., Courteille, F., Guyon F., Do, B. (2009). Influence of primcory packaging on stability studies of fludrocortisones acetate tablets, *European Journal Hospital Pharmacy Science*, 15 (4), pp.71-77.

ICH Harmonised Tripartite Guideline. (2003). Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A (R2). [Em linha]. Disponível em <[http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q1A\\_R2/Step4/Q1A\\_R2\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1A_R2/Step4/Q1A_R2_Guideline.pdf)>. [Consultado em 20/10/2012].

ICH Harmonised Tripartite Guideline. (2003). Evaluation for Stability Data Q1E. [Em linha]. Disponível em <[http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q1E/Step4/Q1E\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1E/Step4/Q1E_Guideline.pdf)>. [Consultado em 20/10/2012].

Isaac, V.L.B., Cefali, L.C., Chiari, B.G., Oliveira, C.C.L.G., Salgado, H.R.N., Corrêa, M.A. (2008). Protocolo para ensaios físico-químicos de estabilidade de fitocosméticos, *Revista Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada*, 29 (1), pp. 81-96.

Kalinkova, G.N. (1999). Studies of beneficial interactions between active medicaments and excipients in pharmaceutical formulations, *International Journal of Pharmaceutics*, 187 (1), pp. 1-15.

Komba, K., Kemeny, S. (2004). A modified error model for the assessment of stability of pharmaceutical products, *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 72, pp. 161-165.

Lachman, L., DeLuca, P., Akers, M.J. (2001). Testes de estabilidade e fundamentos de cinética química. In: Lachman, L., Lieberman, H.A., Kanig, J.L. *Teoria e prática na indústria farmacêutica*. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian, pp. 1277-1355.

Larani, L. (2008). *Fármacos & medicamentos*. Porto Alegre, Artmed Editora.

- Leite, E.G. (2005). *Estabilidade: importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia de fármacos e medicamentos*. Porto Alegre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- Manfio, J.L., Dal'Maso, A., Pugens, A.M., Junior, L.B., Steppe, M. (2007). Determinação do prazo de validade do medicamento carbocisteína xarope através do método de Arrhenius, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 43 (4), pp. 563-570.
- Maulding, H.V., Zoglio, M.A., Jonhston, E.J. (1968 a). Pharmaceutical heterogeneous systems II. Study of hydrolysis of aspirin in combination with fatty acid tablet lubricants, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 57, pp.1873-1876.
- Maulding, H.V., Zoglio, M.A., Jonhston, E.J. (1968 b). Pharmaceutical heterogeneous systems III. Inhibition of stearate lubricant induced degradation of aspirin by use of certain organic acids, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 57, pp. 1877-1880.
- Melveger, A.J., Huynh-Ba, K. (2009). Critical Regulatory Requirements for a Stability Program, *In: Huynh-Ba, K. Handbook of stability testing in pharmaceutical development*. New York, Springer, pp. 9-19.
- Mitrevej, A., Hollenbeck, R.G. (1983). Influence of hydrophilic excipients on the interaction of aspirin and water, *International Journal of Pharmaceutics*, 14, pp. 243-250.
- Moore, D.E. (2006). Photochemistry of diuretic drugs in solution. *In: Albini, A., Fasani, E. Drugs: photochemistry and photostability*. Cambridge, The Royal Society of Chemistry, pp. 100-115.
- Murakami, F.S., Mendes, C., Pereira, R.N., Valente, B.R., Franchi, S.M., Silva, M.A.S. (2009). Estudo de estabilidade de comprimidos gastro-resistentes contendo 20 mg de omeprazol, *Latin American Journal of Pharmacy*, 28 (5), pp. 645-652.
- Nazareth, M.R., Huyck, C.L. (1961). Effect of calcium succinate and calcium carbonate on the stability of aspirin tablets, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50, pp. 608-611.
- Newman, A.W., Byrn, S.R. (2003). Solid-state analysis of the active pharmaceutical ingredient in drug products, *Reviews, Research Focus*, 8 (19), pp. 898-905.

Oliva, A., Fariña, J.B., Llabrés, M. (1996). Influence of temperature and shaking on stability of insulin preparations: degradation kinetics, *International Journal of Pharmaceutics*, 143, pp. 163-170.

Oliva, A., Llabrés, M., Fariña, J.B. (2011). Data analysis in stability studies of biopharmaceutical drugs with isothermal and non-isothermal assays, *Trends in Analytical Chemistry*, 30 (5), pp. 717-730.

Oliva, A., Fariña, J.B., Llabrés, M. (2012). Na improved methodology for data analysis in accelerated stability studies of peptide drugs: practical considerations, *Talanta*, 94, pp. 158-166.

Oliveira, G.G.G, Ferraz, H.G., Matos, J.S.R. (2005). Thermoanalytical study of glibenclamide and excipients, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 79 (2), pp. 267-270.

Oliveira, M.A., Yoshida, M.I., Gomes, E.C.L. (2011). Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica, *Química Nova*, 34 (7), pp. 1224-1230.

Oriqui, L.R., Mori, M., Wongtschowski, P., Freitas, S.R., Santos, J.G.M. (2011). Definição de *shelf-life* para produtos químicos – A importância de um guia de estabilidade específico para o segmento, *Química Nova*, 34 (10), pp. 1869-1874.

Pombal, R., Barata, P., Oliveira, R. (2010). Estabilidade dos medicamentos manipulados, *Revista da Faculdade de Ciências da Saúde*, 7, pp.322-333.

Prista, N., Alves, A.C., Morgado, R.M.B. (1990). *Tecnologia farmacêutica e farmácia Galénica*. III volume. 3ª edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Prista, N., Alves, A.C., Morgado, R.M.B., Lobo, J.S. (2008 a). *Tecnologia farmacêutica*. I volume. 7ª edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Prista, N., Alves, A.C., Morgado, R.M.B., Lobo, J.S. (2008 b). *Tecnologia farmacêutica*. II volume. 6ª edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Prista, N., Alves, A.C., Morgado, R.M.B., Lobo, J.S. (2009). *Tecnologia farmacêutica*. III volume. 6ª edição. Lisboa, Fundação Calouste Gulbenkian.

Raw, A.S., Furness, M.S., Gill, D.S., Adams, R.C., Holcombe Jr., F.O., Yu, L.X. (2004). Regulatory considerations of pharmaceutical solid polymorphism in abbreviated new drug applications (ANDAs), *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, pp. 397-414.

Spong, B.R., Priceb, C.P., Jayasankara, A., Matzgerb, A.J., Hornedoa, N.R. (2004). General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56, pp. 241-274.

TØnnesen, H.H. (2001). Formulation and stability testing of photolabile drugs, *International Journal of Pharmaceutics*, 225, pp. 1-14.

Silva, K.E.R., Alves, L.D.S., Soares, M.F.R., Passos, R.C.S., Faria, A.R., Neto, P.J.R. (2009). Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica, *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 30 (2), pp. 1-8.

Simon, P., Veverka, M., Okuliar, J. (2004). New screening method for the determination of stability of pharmaceuticals, *International Journal of Pharmaceutics*, 270, pp. 21-26.

Vadas, E.B. (2000). Stability of pharmaceutical products. In: Remington. *The science and practice of pharmacy*. 20ª edição. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, pp. 986-994.

Waterman, K.C. (2009). Understanding and predicting pharmaceutical product shelf-life. In: Huynh-Ba, K. *Handbook of stability testing in pharmaceutical development*. New York, Springer, pp. 115-135.

Waterman, K.C., Adami, R.C. (2005). Accelerated aging: prediction of chemical stability of pharmaceuticals, *International Journal of Pharmaceutics*, 293, pp. 101-125.

Woolfe, A.J., Worthington, H.E.C. (1974). The Determination of product expiry dates from short term storage at room temperature, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1 (3), pp. 185-210.

WHO - World Health Organization [Em linha]. Disponível em <[http://www.who.int/medicines/publications/pharmprep/pdf\\_trs953.pdf](http://www.who.int/medicines/publications/pharmprep/pdf_trs953.pdf)>. [Consultado em 07/11/2012].

Yoshioka, S., Stella, V.J. (2002). *Stability of drugs and dosage forms*. New York, Kluwer Academic Publishers.

Xie, Y., Tao, W., Morrison, H., Chiu, R., Jona, J., Fang, J., Cauchon, N. (2008). Quantitative determination of solid state forms of a pharmaceutical development compound in drug substance and tablets, *International Journal of Pharmaceutics*, 362, pp. 29-36.

Zanin, S.M.W., Miguel, M.D., Chimelli, M., Dalmaz, A.C. (2001). Parâmetros físicos no estudo da estabilidade das emulsões, *Revista Visão Acadêmica*, 2 (2), pp. 47-58.

# Anexo

**Tabela 1A** – Valores de teor residual de Omeprazol (%) obtidos para as três amostras. <sup>a</sup> média das três determinações; <sup>b</sup> desvio padrão (Fonte: Murakami *et al.*, 2009).

Formulação	Tempo (dias)	Teor de OMS <sup>a</sup> (%) ± DP <sup>b</sup> (%)		
		°C e HR Ambiente	40°C e 75% HR	Luz UV
<b>SR</b>	0	100,1 ± 0,47	100,1 ± 0,47	100,1 ± 0,47
	15	98,7 ± 0,29	93,4 ± 0,75	98,0 ± 0,72
	30	97,6 ± 0,41	92,7 ± 0,57	96,6 ± 0,37
	45	96,8 ± 0,22	86,9 ± 0,91	95,7 ± 0,32
	60	91,7 ± 0,80	84,8 ± 0,64	93,7 ± 0,75
	90	91,6 ± 0,39	83,4 ± 0,21	91,7 ± 0,72
	120	90,6 ± 0,41	82,2 ± 0,37	90,5 ± 0,84
	150	88,1 ± 0,33	79,7 ± 0,12	89,7 ± 0,12
	180	84,6 ± 0,44	70,1 ± 0,09	88,4 ± 0,81
<b>R1</b>	0	100,4 ± 0,79	100,4 ± 0,79	100,4 ± 0,79
	15	99,0 ± 0,15	94,1 ± 0,42	98,3 ± 0,94
	30	97,5 ± 0,95	93,3 ± 0,69	97,8 ± 0,75
	45	96,5 ± 1,11	89,0 ± 0,14	96,9 ± 0,25
	60	95,1 ± 0,33	88,2 ± 0,95	96,2 ± 0,95
	90	91,4 ± 0,69	87,9 ± 0,89	95,1 ± 0,02
	120	90,1 ± 0,59	86,9 ± 0,96	93,4 ± 0,58
	150	87,2 ± 1,36	86,6 ± 0,12	92,5 ± 0,09
	180	86,2 ± 0,81	82,0 ± 1,11	90,9 ± 0,65
<b>R2</b>	0	99,99 ± 0,92	99,99 ± 0,92	99,99 ± 0,92
	15	99,1 ± 0,73	93,3 ± 1,70	99,4 ± 0,75
	30	98,6 ± 1,20	93,2 ± 0,56	98,6 ± 0,53
	45	97,1 ± 0,18	90,7 ± 0,41	98,3 ± 1,04
	60	96,7 ± 0,66	89,8 ± 0,47	97,6 ± 0,70
	90	96,1 ± 0,41	88,8 ± 0,37	95,5 ± 0,54
	120	96,4 ± 0,38	86,6 ± 0,60	92,9 ± 0,30
	150	93,8 ± 0,40	86,9 ± 1,20	92,5 ± 0,40
	180	90,8 ± 0,93	84,2 ± 0,26	91,9 ± 0,54

**Tabela 2A** – Resultados da variação de peso das formulações. <sup>a</sup> n = 10 comprimidos. <sup>b</sup> desvio padrão relativo (Fonte: Murakami *et al.*, 2009).

Formulação	Tempo (dias)	Variação de peso <sup>a</sup> (mg) ± DPR <sup>b</sup>		
		°C e HR Ambiente	40°C e 75% HR	Luz UV
SR	0	181,8 ± 0,96	181,8 ± 0,91	181,3 ± 0,31
	15	188,0 ± 1,94	203,7 ± 2,10	183,4 ± 2,80
	30	198,8 ± 2,70	201,8 ± 2,38	183,5 ± 1,60
	45	199,6 ± 1,30	208,7 ± 2,24	184,6 ± 2,90
	60	191,5 ± 1,90	209,9 ± 2,42	182,4 ± 1,80
	90	194,6 ± 1,76	208,5 ± 2,72	184,8 ± 2,83
	120	195,6 ± 2,08	211,2 ± 1,67	183,5 ± 2,53
	150	195,7 ± 1,85	205,0 ± 2,65	187,7 ± 1,50
	180	193,1 ± 2,51	203,8 ± 1,87	185,3 ± 2,35
R1	0	195,7 ± 1,00	195,8 ± 0,94	195,4 ± 1,41
	15	201,9 ± 2,30	207,8 ± 2,80	197,3 ± 1,53
	30	202,6 ± 1,89	210,1 ± 1,31	196,7 ± 2,90
	45	207,3 ± 1,32	214,1 ± 1,96	200,7 ± 2,14
	60	205,7 ± 2,11	215,7 ± 2,50	199,4 ± 0,94
	90	205,5 ± 1,39	201,9 ± 2,12	197,2 ± 2,08
	120	203,5 ± 2,90	222,1 ± 2,48	197,6 ± 2,51
	150	209,1 ± 2,10	218,4 ± 2,27	198,1 ± 2,24
	180	209,1 ± 2,19	220,1 ± 2,66	199,1 ± 1,07
R2	0	204,3 ± 1,22	204,2 ± 1,28	204,3 ± 1,23
	15	212,8 ± 2,80	218,6 ± 2,01	207,1 ± 2,22
	30	214,8 ± 1,40	221,7 ± 2,34	205,7 ± 1,45
	45	214,3 ± 2,67	221,6 ± 1,51	208,1 ± 2,00
	60	214,6 ± 2,08	225,7 ± 2,40	208,8 ± 2,00
	90	215,1 ± 1,97	232,7 ± 2,88	204,8 ± 1,51
	120	217,4 ± 1,80	228,3 ± 3,01	207,4 ± 2,63
	150	218,6 ± 2,67	228,2 ± 2,56	206,9 ± 2,02
	180	216,3 ± 2,41	229,4 ± 1,64	204,5 ± 2,00

**Tabela 3A** – Valores de pH obtidos após avaliação das amostras (média  $\pm$  desvio padrão) (Fonte: Manfio *et al.*, 2007).

Temperatura (°C)	Tempo (dias)	pH inicial	pH final
40	120	5,63 $\pm$ 0,00	5,44 $\pm$ 0,02
50	96	5,63 $\pm$ 0,00	5,77 $\pm$ 0,07
60	30	5,63 $\pm$ 0,00	5,52 $\pm$ 0,01
70	21	5,63 $\pm$ 0,00	5,75 $\pm$ 0,02

**Tabela 4A** – Teor de carbocisteína nas amostras (\* valor médio  $\pm$  desvio padrão para n=3) (Fonte: Manfio *et al.*, 2007).

Temperatura (°C)	Tempo (dias)	Concentração Inicial (%)*	Concentração Final (%)*
40	120	104,68 $\pm$ 0,04	57,16 $\pm$ 1,96
50	96	104,68 $\pm$ 0,04	86,14 $\pm$ 0,60
60	30	108,36 $\pm$ 0,23	61,80 $\pm$ 3,92
70	21	102,70 $\pm$ 1,19	43,98 $\pm$ 2,09

