

ARTIGO ORIGINAL**Método indicativo de estabilidade por cromatografia líquida de alta eficiência para análise de comprimidos de cloridrato de metformina**

1º Ten (RM2-S) JULIANA ALVIM PAIXÃO CHAVES*¹
1º Ten (RM2-S) CÁTIA CRUZ*²
ODILON BARBOSA DE BRITO*³
CB (RM2-QI) DAYANA DE OLIVEIRA BRAGA DA SILVA*⁴
CF (RM1-S) MARCO ANTÔNIO ARRUDA*⁵

Resumo: Cloridrato de metformina (MTF) é um antidiabético oral muito utilizado no tratamento do *diabetes mellitus* tipo II. O presente trabalho teve como objetivo desenvolver um método indicativo de estabilidade para análise de substâncias relacionadas de MTF com seletividade adequada, utilizando-se a cromatografia líquida de alta eficiência. O método proposto foi realizado em coluna C18 – 4,6 mm x 250 mm - 5µm, eluição isocrática, detector de DAD, no comprimento de onda de 218 nm. A fase móvel consistiu de fosfato de amônio monobásico dissolvido em água ultra-pura, pH 2,0, fluxo 0,7 mL/min e temperatura do forno de coluna a 30°C. O método foi avaliado através do estudo de degradação forçada de amostras do insumo farmacêutico ativo e da formulação, sendo exposto a condições de hidrólise ácida (HCl 1M - 10 dias), hidrólise básica (NaOH 1M - 15 horas), hidrólise neutra (água - 10 dias), oxidação (H₂O₂ 30% - 5 dias), fotólise (6 x 10⁶ lux/hora), temperatura (70°C - 10 dias), íons metálicos (Cloreto de Cobre II 1 M - 24 horas) e degradação úmida (60°C/75 % UR - 10 dias). Foi encontrada degradação na condição oxidativa (26,6% na formulação e 16,4% no IFA) e na hidrólise básica (10,0% no IFA). O método foi capaz de detectar os possíveis produtos de degradação da formulação, mostrando-se específico e capaz de mensurar o teor do insumo farmacêutico ativo na presença de produtos de degradação sem interferência, sendo considerado um método indicativo de estabilidade.

Palavras-chave: Metformina; Comprimidos; Estabilidade de medicamentos; Cromatografia líquida de alta pressão.

Abstract: Metformin hydrochloride (MTF) is an oral antidiabetic widely used in the treatment of type II *diabetes mellitus*. The present work had as objective to develop a stability-indicating method for analysis of MTF related substances with adequate selectivity, using high performance liquid chromatography. The proposed method was carried out in C18 - 4.6 mm x 250 mm - 5µm column, isocratic elution, DAD detector, at wavelength of 218 nm. The mobile phase consisted of monobasic ammonium phosphate dissolved in ultra-pure water, pH 2.0, flow 0.7 mL / min and column oven temperature at 30°C. The proposed method was evaluated through the forced degradation study of the active pharmaceutical ingredient and the formulation, being exposed to acid hydrolysis conditions (1M HCl - 10 days), basic hydrolysis (1M NaOH - 15 hours), neutral hydrolysis 10 days), oxidation (30% H₂O₂ - 5 days), photolysis (6 x 10⁶ lux / hour), temperature (70°C - 10 days), metal ions (Copper Chloride II 1 M - 24 hours), humidity (60°C / 75% RH - 10 days). Degradation was found in the oxidative condition (26.6% in the formulation and 16.4% in the API) and in the basic hydrolysis (10.0% in the API). The method was able to detect the possible products of degradation of the formulation, being specific and able to measure the content of the active pharmaceutical ingredient in the presence of degradation products without interference, being considered a stability-indicating method.

Keywords: Metformin; Tablets; Drug stability; High performance liquid chromatography.

Submetido em: 13/07/2019

Aprovado em: 06/10/2019

*¹Farmacêutica. Encarregada da Seção de Desenvolvimento Analítico. Laboratório Farmacêutico da Marinha. Mestre em Ciências Farmacêuticas. E-mail: juli.alvim@gmail.com

*²Farmacêutica. Encarregada da Seção de Validação de Metodologia Analítica. Laboratório Farmacêutico da Marinha. Mestre em Ciências e Tecnologia Farmacêutica.

*³Técnico em Biotecnologia. Técnico de Tecnologia Militar. Analista de Validação. Laboratório Farmacêutico da Marinha.

*⁴Técnica em Química. Analista de Validação. Laboratório Farmacêutico da Marinha.

*⁵Farmacêutico. Encarregado da Seção de Manipulação de Líquidos e Sólidos. Laboratório Farmacêutico da Marinha

INTRODUÇÃO

O cloridrato de metformina (MTF) é um antidiabético oral, o qual pertence a uma classe de compostos orgânicos conhecidos como biguanidas, sendo muito utilizado no tratamento do *diabetes mellitus* tipo II.¹ Apresenta grande utilização no mercado nacional, fazendo parte da Relação Nacional de Medicamentos (RENAME).² Apesar de sua grande utilização como antidiabético, o MTF pode ser utilizado para o tratamento de ovário policístico. Estudos demonstram também que o MTF tem ação significativa na inibição do crescimento de células envolvidas no câncer ovariano e pancreático.¹

De acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição, sua nomenclatura química é Cloridrato de N,N-dimetilimidodicarbonimidico diamida. Sua fórmula empírica é C₄H₁₁N₅·HCl e possui massa molecular de 165,62g/mol. É descrito como um pó cristalino branco ou quase branco facilmente solúvel em água e pouco solúvel em etanol.³ O *Drug Master File* (DMF), relatório do fabricante do insumo farmacêutico ativo (IFA) de MTF, descreve a rota de síntese de MTF e reporta a presença de possíveis impurezas de síntese e produtos de degradação (PD) (Figura 1).

O método para análise de substâncias relacionadas de MTF descrito na farmacopeia foi avaliado quanto a sua capacidade de identificar e quantificar as impurezas de MTF, porém não apresentou seletividade adequada devido à falta de

resolução entre o pico de MTF e melamina, uma impureza conhecida.

Nesse contexto, o desenvolvimento de um Método Indicativo de Estabilidade (MIE) se faz relevante. MIE são métodos analíticos quantitativos indicados para análise de amostras de estabilidade. São métodos específicos capazes de mensurar com exatidão o teor do insumo farmacêutico ativo, produtos de degradação e outros componentes de interesse, sem interferência.

A classificação de um método como indicativo de estabilidade também depende da finalidade à qual ele é proposto. Um método pode ser indicativo de estabilidade somente para teor, sendo capaz de quantificar um IFA em meio aos seus produtos de degradação sem quantificar todos os produtos de degradação relevantes; ou somente para produtos de degradação, sendo capaz de quantificar todos os produtos de degradação relevantes, mas não o IFA; ou

ainda indicativo de estabilidade para ambos os aspectos, ou seja, para teor e para produtos de degradação.⁴

O estudo de degradação forçada (EDF) é a ferramenta utilizada para se obter um perfil de degradação para o desenvolvimento do MIE com seletividade adequada. O estudo do perfil de produtos de degradação (PD) e de impurezas em medicamentos é regulado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) através da Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 53 de 2015 que estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de PD em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares. O estudo de degradação forçada permite a geração de produtos de degradação através da exposição do IFA e produto terminado (PT) a condições de estresse, sendo uma ferramenta para se obter um perfil de degradação para o desenvolvimento do MIE, além de fornecer informações sobre as possíveis rotas de degradação.⁴

Portanto, para garantir a qualidade, a eficácia e a segurança do medicamento, é imprescindível uma metodologia analítica adequada na avaliação de impurezas da formulação. Contudo, poucas monografias farmacopeicas estão descritas com esta finalidade, fazendo-se necessário o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade.

O principal objetivo do método cromatográfico indicativo de estabilidade é separar todas as impurezas de MTF em uma mesma

Figura 1 - Fórmula estrutural de MTF e suas impurezas relacionadas

Cloridrato de Metformina	
Cianoguanidina	
Melamina	
1-Metilbiguanida	
4,6-diamino-1,3,5-triazina-2-biguanidina	
Dimetilamina	CH ₃ NHCH ₃

condição cromatográfica. Porém, durante as análises de bancada, pôde-se observar que o método proposto para análise de substâncias relacionadas da Farmacopeia Brasileira 5ª Edição (2010) não era capaz de separar o MTF e a sua impureza relacionada, a melanina, com resolução adequada (resolução mínima de 10) estabelecida pela própria Farmacopeia.³ Assim sendo, a resolução entre melamina e MTF é o principal problema encontrado na metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira. Isto pode ser explicado em parte, pelos valores da constante de dissociação (pKa) entre MTF (2,8 e 11,5) e melamina (5,1).⁵

Sendo assim, o artigo propõe uma adequação da metodologia descrita e para embasar o estudo de degradação forçada. Foi realizada uma busca na literatura científica para métodos indicativos de estabilidade que tenham sido desenvolvidos e seus respectivos dados referente às condições de degradação.

O estudo de degradação forçada apresentado pelo fabricante do IFA de MTF através de seu documento DMF demonstra que o MTF não é degradado frente a condições de hidrólise ácida, oxidação, umidade, temperatura e exposição à luz, sofrendo apenas degradação frente à hidrólise básica.

Bhamare *et. al.* realizaram estudos de estresse em condições de degradação ácida, básica, oxidativa, fotolítica e térmica de comprimidos com cloridrato de metformina associado ao agente antilipêmico fenofibrato, tendo sido detectadas taxas significativas de degradação na condição básica.⁶

Konari e Jacob realizaram a degradação forçada em meio ácido, básico, térmico, oxidativo e fotolítico de comprimidos com a associação de três antidiabéticos orais: metformina,

sitagliptina, e saxagliptina, tendo sido encontrado degradação significativa na condição de degradação básica.⁷

Rao *et. al.* realizaram estudos de degradação forçada em comprimidos contendo metformina em meio ácido, básico, oxidativo, térmico e fotolítico, tendo sido encontrado degradação significativa em todas as condições.⁸

Stenger *et. al.* realizaram estudos de degradação forçada em comprimidos contendo metformina nas condições ácida, básica, oxidativa e fotolítica, tendo observado degradação significativa apenas na condição básica.⁹

Esses estudos ajudaram a criar um racional mais objetivo de ponto de partida e de *endpoints* estabelecidos para os testes de degradação forçada que foram realizados, diminuindo a experimentação empírica e promovendo celeridade, visto que, as condições de estudo foram baseadas nesses estudos já realizados.

Não foram encontrados estudos relacionados à degradação forçada por meio de íons metálicos em MTF. Dessa forma, foram utilizados os critérios mínimos recomendados pelo *International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use* (ICH) e pela Organização Mundial da Saúde (OMS).¹⁰

Diante do exposto, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver um método indicativo de estabilidade para análise de substâncias relacionadas de MTF com seletividade adequada, utilizando-se a cromatografia líquida de alta eficiência, através da adequação do método descrito na farmacopeia brasileira de modo que o mesmo possa ser considerado como um MIE para análise de substâncias relacionadas de MTF com seletividade e especificidade adequada,

através da utilização da ferramenta técnica recomendada pelo órgão regulatório competente, que é o estudo de degradação forçada.

MÉTODOS

Materiais e reagentes

A água ultrapura obtida por sistema Milli-Q (Millipore System, Suíça) foi utilizada no preparo de todas as soluções. O fosfato de amônio monobásico apresenta grau de qualidade para análise em CLAE e foi adquirido da empresa Merck KGaA (Alemanha). O ácido fosfórico 85%, ácido clorídrico, hidróxido de sódio, peróxido de hidrogênio 30% e o sulfato cúprico utilizados apresentam grau PA e foram adquiridos das empresas Alphatec (Brasil), J.T. Baker (EUA), Vetec (Brasil), Êxodo (Brasil) e Vetec (Brasil), respectivamente. Todos os reagentes e soluções foram filtrados por membrana de celulose regenerada 0.45µm de poro (Millipore, Alemanha). O padrão de referência de MTF foi adquirido do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (IN-CQS, Brasil) e as impurezas, melamina e cianoguanidina, da empresa Sigma-Aldrich (Alemanha) e os comprimidos utilizados foram produzidos pelo Laboratório Farmacêutico da Marinha (LFM, Brasil). A coluna cromatográfica utilizada foi uma C18 250 x 4,6 mm x 5 µm (Phenomenex, EUA).

Equipamentos e instrumentos

As análises foram realizadas em um sistema de CLAE Shimadzu Nexera X2 equipado com detector de arranjo de diodos modelo SPD-M20A, autoamostrador refrigerado modelo SIL-30AC, integrador modelo CBM-20A e bomba modelo LC-30AD. Os sinais adquiridos foram monitorados e processados pelo *software Lab Solu-*

tions. Outros equipamentos e instrumentos tais como pHmetro (Inolab, Alemanha), balança analítica ATX-224 (Shimadzu, Japão), ultrassom (CTA, Brasil), estufa (Visomes Plus, Brasil), câmara climática (Nova Ética, Brasil), câmara de fotoestabilidade (Nova Ética, Brasil) e pipeta automática (Brand, Alemanha) foram utilizados para o preparo dos padrões e amostras.

Condições cromatográficas

O método utilizado é isocrático com fluxo da fase móvel de 0,7 mL/min e como fase estacionária foi utilizada uma coluna C18 (250 x 4,6 mm x 5 µm). O volume de injeção das amostras foi de 20 µL. A eluição de MTF e suas impurezas relacionadas foram visualizadas em detector ultravioleta no comprimento de onda de 218 nm. A temperatura do forno de coluna para todas as injeções foi programada para 30°C ± 2°C. Os equipamentos utilizados foram devidamente calibrados e qualificados.

Preparo das soluções

Foram utilizados padrões de impurezas com cianoguanidina e melamina conforme descrito na Farmacopéia Brasileira 5ª Edição³ para verificação da resolução entre os picos pelo método proposto. A cianoguanidina foi preparada em uma concentração final de aproximadamente 0,001 mg/mL e a solução de melamina apresentou concentração final de 0,002 mg/mL, contaminada com a solução padrão de MTF para se avaliar a resolução entre os dois picos.

A fase móvel foi preparada pesando-se 17g de fosfato de amônio monobásico para balão volumétrico de

1000 mL com pH ajustado com ácido fosfórico 85% para 2,0 e diluindo em água ultrapura.

As amostras para os testes de hidrólise, oxidação e íons metálicos foram preparadas a partir de uma solução-mãe contendo metformina na concentração 50 mg/mL, sendo realizadas diluições a partir dessa solução. As diluições subsequentes foram chamadas de D1, D2 e D3, com concentrações de 5 mg/mL, 0,5 mg/mL e 0,005 mg/mL, respectivamente. A solução D1 foi exposta a 1 mL do agente degradante nas concentrações indicadas na tabela 1. A solução D1, mais concentrada, foi utilizada para visualização e quantificação das impurezas e a solução D3 foi utilizada para visualizar o decaimento do pico principal de metformina e quantificação da porcentagem de degradação apresentada após a exposição à determinada condição.

Uma fina camada de amostra (placebo, produto terminado triturado e IFA), aproximadamente 1 cm, foi colocada em vidro de relógio e as amostras foram expostas as condições de umidade, temperatura e luz por um tempo e intensidade apresentados na tabela 1, em seguida, essas amostras foram diluídas da mesma forma que as amostras citadas acima.

As soluções D3 sem degradação e com degradação foram comparadas quanto o seu decaimento frente à degradação exposta e foi calculado o percentual de degradação. As amostras D1 após a exposição à condição de degradação foram avaliadas frente ao aparecimento de impurezas em comparação com a amostra sem degradação.

RESULTADOS

O método para análise de substâncias relacionadas da Farmacopéia Brasileira 5ª Edição³ foi utilizado como base para o desenvolvimento do novo MIE, sendo a alteração de fluxo de 1,0 mL/min para 0,7 mL/min e do pH da fase móvel de 3,0 para 2,0 que apresentou melhores resultados de resolução entre melamina e MTF, apresentando um valor de resolução de aproximadamente 15, com separação adequada conforme podemos visualizar na figura 2, sendo superior ao mínimo exigido pela farmacopéia.

Assim, foram submetidas amostras do fármaco isolado, do placebo e do produto terminado, à umidade, fotólise, termólise, hidrólise ácida/básica/neutra, íons metálicos e oxidação com objetivo de degradar entre 10% e 30%. Após a exposição aos

diferentes agentes degradantes, as amostras foram preparadas nas concentrações de 0,005 mg/mL e 5 mg/mL, para avaliação do pico principal de MTF e para análise das impurezas: 5 mg/mL, respectivamente.

Um resumo dos resultados e das condições de degradação a que as amostras foram expostas estão apresentadas na Tabela 1.

Figura 2 - Cromatogramas sobrepostos das soluções de impurezas. Em preto, a solução de MTF e melamina para cálculo da resolução, onde o primeiro pico é de MTF e o segundo de Melamina. Em rosa, a solução de cianoguanidina. Os cromatogramas foram obtidos através do software Labsolution nas condições de análise novas propostas nesse artigo.

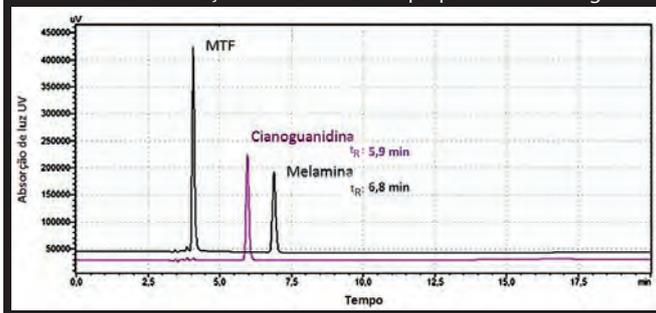


Tabela 1 – Resumo dos resultados de degradação das amostras de IFA de MTF e PT com suas respectivas purezas de pico

RESUMO DOS RESULTADOS DE DEGRADAÇÃO DE METFORMINA						
Condição	% Degradação		% Impurezas		Pureza de Pico	
	IFA*	PT**	IFA	PT	IFA	PT
Hidrólise Neutra (10 dias)	0,3	1,9	0,3	0,6	0,999999	0,999780
Hidrólise Ácida (HCl 1M - 10 dias)	0,9	4,5	0,8	0,8	0,999578	1,000000
Hidrólise Básica (NaOH 1M - 15 horas)	10,0	5,7	5,0	3,3	0,991950	0,994995
Oxidação (H ₂ O ₂ 30 % - 5 dias)	26,6	26,6	14,8	18,6	0,998929	0,999990
Umidade (60°C/75 % UR - 10 dias)	3,1	0,5	0,3	0,6	0,999989	0,999900
Aquecimento (70°C - 10 dias)	1,4	1,4	0,3	0,6	0,999999	0,999750
Íons Metálicos (CuCl ₂ 1M – 24 horas)	4,3	2,0	0,3	0,6	0,999997	1,000000
Fotólise (6x10 ⁶ lux/hora)	8,0	8,0	0,4	0,6	0,999983	0,999996

*IFA – Insumo farmacêutico ativo **PT – Produto terminado.

O MTF demonstrou ser suscetível a degradação por hidrólise básica e na condição oxidativa. A degradação foi significativa (entre 10 e 30 %) nas condições de hidrólise básica com NaOH 1M após 15 horas de oxidação com H₂O₂ 30 % após 5 dias, ambos em temperatura ambiente.

Além disso, é importante destacar que a formulação apresentou atividade protetora frente à hidrólise básica com o IFA sofrendo uma degradação de 10,0%, enquanto a formulação apresentou degradação de 5,7%, além disso, as duas impurezas relacionadas na Farmacopeia Brasileira foram identificadas: cianoguanidina e melamina, conforme a figura 3.

Na oxidação, observamos o efeito reverso, a formulação não protegeu o MTF de sofrer oxidação, a formulação apresentou a formação de 18,6% de im-

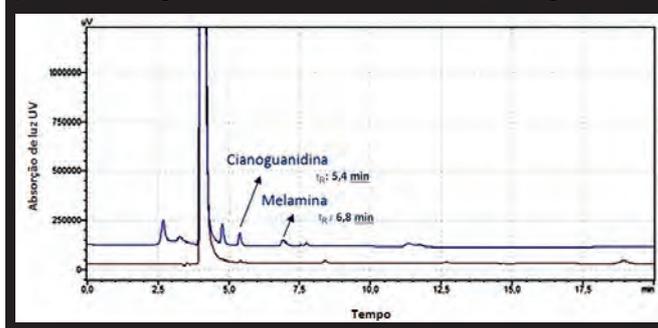
purezas frente a 14,8% de impurezas que surgiram com a exposição do MTF apenas. A avaliação da degradação por oxidação com peróxido de hidrogênio levou em consideração apenas o aparecimento de impurezas, pois, a avaliação do decaimento do pico de MTF foi prejudicada, uma vez que, o pico de peróxido de hidrogênio interfere na integração adequada do pico de MTF. Apesar dessa interferência, o balanço de massas ainda apresentou um valor aceitável e o aparecimento

de impurezas demonstra que o MTF é suscetível a oxidação.

As demais condições de degradação apresentaram degradação insuficiente (<10%) em diversos tempos testados. Com isso, foram delimitados *endpoints* para as condições de degradação conforme estabelecidos em guias internacionais, **10** como o *WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations* n°52, o qual estabelece que na ausência de produtos de degradação após 10 dias, o IFA é considerado estável sob as condições de estresse particulares.⁸ Mesmo frente a condições extremas de degradação, as demais condições apresentaram degradação menor que 10% e, dessa forma, foram consideradas estáveis.

Duas impurezas foram identificadas na condição de hidrólise básica (NaOH 1M

Figura 3 - Comparativo entre o cromatograma de IFA sem degradação (linha vermelha) e após a exposição à degradação básica com NaOH 1M – 15 horas (linha azul) com a indicação dos picos de cianoguanidina e melamina na condição degradada.



após 15 horas), cianoguanidina e melamina. No IFA, os valores obtidos foram de 0,02% e 0,67%, respectivamente e no produto terminado, os resultados foram 0,05% e 0,74%, respectivamente. Esses dados refletem que a quantificação dessas impurezas nas concentrações indicadas pela legislação vigente e pela Farmacopeia Brasileira 5ª Edição está assegurada pela metodologia desenvolvida, o que garante segurança nas análises do produto terminado frente aos possíveis produtos de degradação.³⁻⁴ Outras impurezas desconhecidas foram quantificadas com um total de impurezas de 3,3% no IFA e 5,0% no produto terminado (incluído as impurezas conhecidas descritas acima).

A pureza de pico foi verificada para MTF em todas as condições de estresse e foi calculada pelo *software Labsolution*. Os resultados encontrados, resumidos na Tabela 1, demonstram que o pico de MTF permaneceu puro, sem influências de impurezas que poderiam interferir na metodologia estudada durante a avaliação da sua estabilidade de longa duração.

As impurezas que surgiram provenientes das condições de degradação, mesmo nas condições em que a degradação foi menor que 10% foram quantitativamente equivalentes ao decaimento do pico de metformina, ou seja, o balanço de massas apresentado foi satisfatório em todas as condições, apresentando valores iguais ou próximos a 100%. As condições onde o balanço de massas foi diferente de 100% ocorreram, possivelmente, devido à variação intrínseca do procedimento de análise ou por diferença de absorvidade molar dos produtos de degradação que surgiram.¹¹

O método foi validado conforme a RDC nº 166 de 2017 e apre-

sentou seletividade, sendo capaz de identificar de forma inequívoca, a resposta do analito na presença dos demais componentes da formulação. MTF, cianoguanidina, impureza B, melamina e amostra apresentaram os mesmos cromatogramas com áreas máximas e mínimas no mesmo comprimento de onda. As impurezas utilizadas foram as impurezas avaliadas também pelo fabricante, sendo que melamina e impureza B foram utilizadas apenas para identificação e cianoguanidina foi utilizada com o intuito de quantificação, por isso, os testes de validação também foram aplicados a ela. A linearidade foi avaliada para cianoguanidina e MTF, tendo como critério de aceitação o coeficiente de correlação (r) $\geq 0,990$, sendo os resultados de $r = 0,9983$ e $0,9944$ para cianoguanidina e MTF, respectivamente. O limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) foram calculados estatisticamente através dos resultados de linearidade e apresentaram valores de LD: 0,00005 mg/mL e LQ: 0,00014 mg/mL para cianoguanidina e LD: 0,00001 mg/mL e LQ: 0,00003 mg/mL para MTF. A precisão intracorrída (repetibilidade) foi avaliada pelo Desvio Padrão Relativo (DPR), sendo estabelecido o critério de aceitação de 5,6%, os valores obtidos foram de 0,7% e 0,3% para cianoguanidina e MTF, respectivamente. Para avaliação da precisão intercorrída (precisão intermediária) foi estabelecido o desvio padrão relativo entre as análises dos analistas no mesmo dia e em dias alternados de até 5,6%. Para análise complementar da precisão intermediária, foi calculado o valor de F para avaliação das variâncias. Os resultados obtidos em todas as avaliações apresentaram o DPR den-

tro do limite estabelecido e as variâncias foram consideradas homogêneas em todos os casos. A exatidão foi avaliada através da recuperação, tendo como critério de aceitação valores entre 95% – 105%, tanto para cianoguanidina, como para MTF. O teste foi realizado em 3 níveis (baixo, médio e alto) e apresentou os seguintes resultados para cianoguanidina: 102,8% (baixo), 99,5% (médio) e 97,1% (alto) e para MTF 97,9% (baixo), 100,1% (médio) e 99,0% (alto). A estabilidade das soluções foi avaliada, sendo as mesmas consideradas estáveis até 48 horas após o preparo, pois apresentaram resultados de recuperação dentro da faixa de 95% a 105% em relação ao tempo inicial, assim como a robustez, onde o método mostrou-se robusto (recuperação 95 a 105% frente ao método sem alteração) frente aos diversos fatores avaliados, como variação do pH da fase móvel, diferente fabricantes de coluna e variação do fluxo da fase móvel.¹²

DISCUSSÃO

Por meio da pesquisa bibliográfica realizada, pôde-se observar que o MTF pode ser suscetível a oxidação, a fotólise, a degradação térmica, mas principalmente a hidrólise básica.

De acordo com os resultados experimentais apresentados pelo teste de degradação forçada, a porcentagem de degradação foi significativa (entre 10% e 30%) nas condições de hidrólise básica e de oxidação, demonstrando que os resultados do estudo de degradação forçada realizado estão de acordo com a literatura científica.

É importante destacar que as condições utilizadas entre os dife-

rentes autores variam muito. Cada autor utiliza seu método de escolha, estipula seu *endpoint* e escolhe parâmetros como, por exemplo, temperatura. Além disso, é importante ressaltar que a formulação e o IFA utilizados nos estudos apresentados também são diferentes. Sendo assim, o perfil de degradação de cada fabricante é único, podendo gerar diferentes impurezas e diferentes porcentagens de degradação em cada estudo de degradação forçada. Contudo, mesmo diante dessas observações os resultados encontrados corroboram com os dados encontrados na literatura científica.

Ainda de acordo com os resultados apresentados, podemos perceber que a formulação, avaliada na mesma condição que o IFA, apresentou atividade protetora frente à hidrólise básica (5,7%), o que demonstra que o produto terminado é mais estável que o IFA frente a sua tendência a formação de produtos de degradação.

Além disso, é importante destacar que a MTF é estável frente à condição de umidade e temperatura, posto que, o processo produtivo do produto terminado envolve as etapas de granulação, secagem, mistura e revestimento, sendo assim, exposto a condições de alta umidade devido à adição de solução aglutinante aquosa e aquecimento, tanto durante a etapa de secagem do granulado em estufa, a 55°C por 1 hora, como no revestimento dos núcleos.

Ainda assim, de acordo com os resultados obtidos no estudo de degradação forçada de Cloridrato de metformina, o IFA não apresentou degradação significativa (<10%) mesmo em condições extremas, com valores de temperatura, umidade e tempo de exposição superiores aos

utilizados durante a produção do medicamento. As degradações por hidrólise neutra e ácida também não foram consideráveis e a formulação apresentou efeito protetor do IFA frente à hidrólise básica.

Os resultados obtidos sugerem que as condições de processamento utilizadas não influenciariam no perfil de degradação do produto terminado.

Diante dos resultados apresentados, o método foi considerado indicativo de estabilidade, pois apresentou resultados confiáveis, sendo capaz de quantificar seus produtos de degradação em meio aos demais componentes da formulação, sem interferência. O placebo não apresentou nenhum componente eluindo no mesmo tempo de retenção da MTF ou dos produtos de degradação e não apresentou alteração frente às condições avaliadas. Além disso, para corroborar e complementar o estudo de degradação, o método foi validado e apresentou todos os parâmetros dentro da faixa de aceitação, conforme apresentado acima.

CONCLUSÃO

O método indicativo de estabilidade desenvolvido por cromatografia líquida de alta eficiência por fase reversa para determinação de substâncias relacionadas de MTF é seletivo, sendo capaz de separar as impurezas do MTF em meio aos demais componentes da formulação, sem interferência e atendendo as atuais exigências regulatórias. O estudo de degradação forçada foi realizado conforme a legislação atual e gerou subsídio necessário para o desenvolvimento da metodologia indicativa de estabilidade e forneceu o perfil de degradação do produto terminado, estabelecendo as possí-

veis impurezas que podem ser formadas ao longo da vida útil do produto terminado. O método indicativo de estabilidade desenvolvido através do EDF pode ser submetido a outros critérios de avaliação interlaboratorial e ser submetido como método para avaliação de substâncias relacionadas da Farmacopeia Brasileira, pois o mesmo demonstrou ser apto para a finalidade proposta de avaliação de impurezas através dos resultados de validação, podendo ser utilizado na avaliação da qualidade segurança e eficácia do medicamento.

REFERÊNCIAS

1. Brunton LL, Parker KL, Blumenthal DK, Buxton ILO. Goodman & Gilman: manual de farmacologia e terapêutica: o manual portátil do melhor livro-texto de farmacologia do mundo. São Paulo: McGraw Hill do Brasil; 2010.
2. Brasil. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Atenção Básica. Relação nacional de medicamentos essenciais[Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2001[acesso em 10 jul 2001]. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/renome01.pdf>.
3. Farmacopeia brasileira. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária; 2010.
4. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução n. 53, de 04 de dezembro de 2015. Estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semisintéticas, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília (DF), 08 dez 2015;Sec1:53-4.
5. Troja E, Deda L, Boçari G. Ion-pair

ARQUIVOS BRASILEIROS DE MEDICINA NAVAL

Método indicativo de estabilidade por cromatografia líquida de alta eficiência para análise de comprimidos de cloridrato de metformina

HPLC method for the quantification of metformin in human plasma and its application to a pharmacokinetic study. *Br J Pharm Res.* 2016;9:1-9.

6. Bhamare PC, Bari SB, Natarajan S, Patil AA, Patil SH, Shirode PT. Development and validation of a precise single stability indicating HPLC method for determinations of metformin hydrochloride and fenofibrate, in pure form and in pharmaceutical tablets. *In J Pharmtech Res.* 2011;3(1):505-15.

7. Konari SN, Jacob JT. Stability indicating validated RP-HPLC technique for the analysis of multicomponent anti-diabetic drug combos in pharmaceutical dosage forms. *Karbala Int J Mod Sci.* 2015;1:39-48

8. Rao DN, Rao PM, Hussain JN, Sumanoja SL, Rao VR. Method development and validation of forced degradation studies of metformin hydrochloride by using UV spectroscopy. *Int J Pharm Chem Biol Sci.* 2013;3:546-53.

9. Stenger FC, Block LC, Correa R, Freitas RA, Bresolin TMB. HPLC stability indicating assay method for metformin hydrochloride in bulk drug and tablets and cytotoxicity of degradation products. *Curr Pharm Anal.* 2012;8:368-74.

10. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: fifty-second report[Internet]. Geneva: World He-

alth Organization; 2018[acesso em 10 jul 2018]. Disponível em <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/272452/9789241210195-eng.pdf>.

11. Baertschi SW, Pack BW, Hoaglund Hyzer CS, Nussbaum MA. Assessing mass balance in pharmaceutical drug products: new insights into an old topic. *Trends Analyt Chem.* 2013;49:126-36.

12. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução n. 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. *Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil.* Brasília (DF), 25 jul 2017;Sec1:87-9.

Dizem que...

....o uso excessivo do celular traz problemas para sua vida.

Consulte os guias Médico e Odontológico, desmarque online suas consultas, veja endereços das Unidades de Saúde e dos postos do SeDiMe, entre outras facilidades.

Acesse

www.saudenaival.mar.mil.br

ou baixe o aplicativo

A menos que você tenha o



Saúde Naval
app

