

CENTRO UNIVERSITÁRIO SAGRADO CORAÇÃO – UNISAGRADO

ANA LETICIA CARVALHO

ESTUDO DE FOTOESTABILIDADE DA SOLUÇÃO INJETÁVEL FUROSEMIDA
20mg/2mL

BAURU

2022

ANA LETICIA CARVALHO

ESTUDO DE FOTOESTABILIDADE DA SOLUÇÃO INJETÁVEL FUROSEMIDA
20mg/2mL

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como parte dos requisitos
para obtenção do título de bacharel em
Farmácia - Centro Universitário Sagrado
Coração.

Orientador: Prof.º Dr. Danilo Antonini Alves

BAURU

2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

C331e	<p>Carvalho, Ana Leticia</p> <p>Estudo de fotoestabilidade da solução injetável furosemida 20mg/2mL / Ana Leticia Carvalho. -- 2022. 50f. : il.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Danilo Antonini Alves</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Farmácia) - Centro Universitário Sagrado Coração - UNISAGRADO - Bauru - SP</p> <p>1. Furosemida. 2. Material de embalagem. 3. Injetáveis. 4. Fotodegradação. 5. Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. I. Alves, Danilo Antonini. II. Título.</p>
-------	---

ANA LETICIA CARVALHO

ESTUDO DE FOTOESTABILIDADE DA SOLUÇÃO INJETÁVEL FUROSEMIDA
20mg/2mL

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como parte dos requisitos
para obtenção do título de bacharel em
Farmácia - Centro Universitário Sagrado
Coração.

Aprovado em: ___/___/___.

Banca examinadora:

Prof.º Dr.Danilo Antonini Alves
Centro Universitário Sagrado Coração

Prof.º Dr.Fernando Tozze Alves Neves
Centro Universitário Sagrado Coração

Aos meus pais e irmão, que amo incondicionalmente e são parte do que sou hoje. Ao meu amor, amigo e companheiro, que está sempre comigo.

AGRADECIMENTOS

Aos professores que participaram da minha base acadêmica, compartilhando seus conhecimentos e experiências, ao professor Prof. Dr. Danilo Antonini Alves pela confiança e orientação. Ao Laboratório Farmacêutico Santisa de Bauru, que foram fundamentais nas análises do trabalho. Aos familiares, colegas e amigos que estiveram sempre presente nesta etapa da minha vida.

“O futuro pertence àqueles que acreditam
na beleza de seus sonhos.”

(Eleanor Roosevelt).

RESUMO

A furosemida é um medicamento muito importante devido a sua grande aplicabilidade terapêutica, sendo classificado como diurético de alça e também pode ser indicado para o tratamento de insuficiência cardíaca e hipertensão. Pode ser comercializada nas formas injetável e sólido oral. A formulação de um medicamento injetável está relacionada com a natureza do fármaco, em relação a suas características físicas e químicas. A preparação desta apresentação requer algumas diferenças, quando comparadas com outros medicamentos em solução. Para garantir a qualidade e integridade de estruturas de fármacos, são realizados os estudos da estabilidade, sendo alterações de estabilidade do medicamento podem ser influenciadas pelo ambiente como a temperatura, luz e umidade. Através do estudo de fotoestabilidade, os estudos de fotodegradação da furosemida, através da análise de qualidade por cromatografia líquida de alta eficiência. Neste trabalho foi utilizado a câmara de fotoestabilidade para expor o medicamento a 1,2 milhões de lux.horas para observar os efeitos da fotodegradação e a eficácia da ampola âmbar. O acompanhamento da degradação foi realizado por cromatografia líquida de alta eficiência. O produto demonstrou grande sensibilidade com a luz, mas o material de embalagem (vidro âmbar tipo I) garante sua proteção.

Palavras-chave: Furosemida; Material de embalagem; Injetáveis; Fotodegradação; Cromatografia Líquida de Alta Eficiência.

ABSTRACT

Furosemide is a very important drug due to its great therapeutic applicability, being classified as a loop diuretic and can also be indicated for the treatment of heart failure and hypertension. It can be marketed in injectable and oral solid forms. The formulation of an injectable drug is related to the nature of the drug, in relation to its physical and chemical characteristics. The preparation of this presentation requires some differences when compared to other drugs in solution. To ensure the quality and integrity of drug structures, stability studies are carried out, and drug stability changes can be influenced by the environment such as temperature, light and humidity. Through the photostability study, the furosemide photodegradation studies, through the quality analysis by high performance liquid chromatography. In this work, the photostability chamber was used to expose the drug to 1.2 million lux.hours to observe the effects of photodegradation and the effectiveness of the amber ampoule. The monitoring of the degradation was performed by high performance liquid chromatography. The product has shown great sensitivity to light, but the packaging material (type I amber glass) guarantees its protection. Keywords: Furosemide; Packaging material; Drug Injection; Photodegradation; High Performance Liquid Chromatography.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura molecular da Furosemida	12
Figura 2 - Síntese da Furosemida	16
Figura 3 - Localizações principais de trocas de íons e água no néfron, mostrando os locais de ação dos diuréticos	17
Figura 4 - Produtos injetáveis acondicionados em frascos de doses múltiplas e dose única.....	22
Figura 5 - Princípio da separação cromatográfica.....	23
Figura 6 - Condução do estudo de fotoestabilidade	25
Figura 7 - Réplica 1 da adequação de sistema para o ensaio de Teor.	34
Figura 8 - Réplica 1 da adequação de sistema para o ensaio de Produtos de Degradação.....	35
Figura 9 - Cromatograma da solução padrão de impureza B.....	35
Figura 10 - Cromatograma da Amostra controle (Amostra 1)	36
Figura 11 - Cromatograma da Amostra controle (Amostra 2)	36
Figura 12 - Cromatograma da Amostra controle (Amostra 3)	37
Figura 13 - Cromatograma da Amostra dentro da embalagem primária (Amostra 1)	38
Figura 14 - Cromatograma da Amostra dentro da embalagem primária (Amostra 2)	39
Figura 15 - Cromatograma da Amostra dentro da embalagem primária (Amostra 3)	39
Figura 16 - Cromatograma da Amostra fora da embalagem primária (Amostra 1)....	42
Figura 17 - Cromatograma da Amostra fora da embalagem primária (Amostra 2)....	42
Figura 18 - Cromatograma da Amostra fora da embalagem primária (Amostra 3)....	43
Figura 19 - Aspecto do produto após um ciclo de fotoestabilidade	47

SUMÁRIO

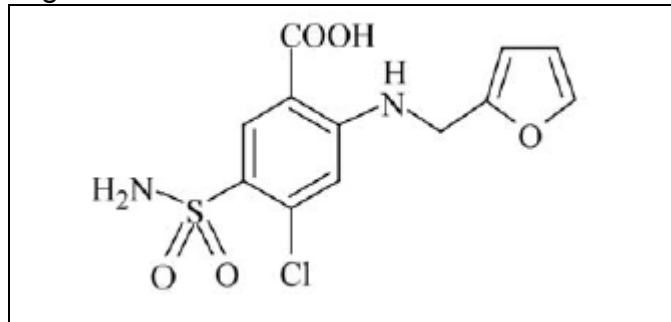
1	INTRODUÇÃO	12
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	DESENVOLVIMENTO	16
3.1	FUROSEMIDA.....	16
3.1.1	Características físico-químicas	16
3.1.2	Características farmacológicas	17
3.1.2.1	<i>Farmacocinética</i>	17
3.1.2.2	<i>Farmacodinâmica</i>	18
3.1.2.3	<i>Efeitos adversos e principais interações medicamentosas</i>	18
3.2	FORMAS FARMACÊUTICAS LÍQUIDAS INJETÁVEIS	19
3.3	EMBALAGENS PRIMÁRIAS PARA INJETÁVEIS	20
3.4	CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS INJETÁVEIS	22
3.5	ESTUDO DE ESTABILIDADE	24
3.5.1	Estudo de fotoestabilidade	24
4	MATERIAIS E MÉTODOS	26
4.1	MATERIAIS	26
4.1.1	Reagentes e solventes	26
4.1.2	Medicamento utilizado	26
4.1.3	Equipamentos e acessórios	26
4.2	MÉTODOS	26
4.2.1	Condições cromatográficas	26
4.2.2	Preparo de soluções	27
4.2.2.1	<i>Solução de Hidróxido de sódio 50% (p/V)</i>	27
4.2.2.2	<i>Fase móvel A</i>	28
4.2.2.3	<i>Solução diluente</i>	28
4.2.2.4	<i>Solução padrão e adequação – Avaliação de teor</i>	28
4.2.2.5	<i>Solução padrão – Avaliação de produtos de degradação</i>	28
4.2.2.6	<i>Solução da amostra</i>	29
4.2.2.7	<i>Solução de Impureza B</i>	29
4.2.3	Procedimento para análise de teor	29

4.2.4	Procedimento para análise de produtos de degradação	30
4.2.5	Execução da fotoestabilidade	31
4.2.6	Critérios de especificação	32
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	33
5.1	ADEQUAÇÃO DE SISTEMA (AVALIAÇÃO DE TEOR)	33
5.2	ADEQUAÇÃO DE SISTEMA (AVALIAÇÃO DE PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO).....	34
5.3	PADRÃO DE IMPUREZA B.....	35
5.4	AMOSTRA CONTROLE	35
5.5	AMOSTRA DENTRO DA EMBALAGEM PRIMÁRIA.....	38
5.6	AMOSTRA FORA DA EMBALAGEM PRIMÁRIA	41
5.7	COR E DESCRIÇÃO DO PRODUTO.....	46
6	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS.....	49

1 INTRODUÇÃO

A furosemida, denominada Ácido 5-(aminossulfonil)-4-cloro-2-[(2-furanilmetil)amino]-benzoico (Figura 1), número CAS: 54-31-9, é caracterizada como um pó cristalino branco, ou quase branco e inodoro (1).

Figura 1 - Estrutura molecular da Furosemida



Fonte: (1)

É classificada como diurético de alça, inibindo a reabsorção de eletrólitos (pertencentes a membrana lumial das células do ramo ascendente), favorecendo a redução de absorção de água. Também possui ação vasodilatadora, devido a diminuição da retenção de sódio. No Brasil, o seu medicamento é comercializado sob as formas comprimido, cápsula e solução injetável, e em associações. (2,3)

Os medicamentos injetáveis são destinados à administração parenteral e classificados como estéreis, ou seja, livres de pirogênio (unidades de endotoxina bacteriana), trata-se de produtos metabólitos orgânicos provindos de bactérias gram-negativas, que podem ocasionar febres e hipotensão em pacientes que recebem a preparação (4).

A via parenteral é de extrema importância quando é necessária a rápida ação do medicamento, como em casos de emergência, quando não há cooperação do paciente (em caso de inconsciência ou impossibilidade de aceitar ou tolerar a medicação) ou quando a medicação é ineficaz por outras vias. (4)

A formulação de um medicamento para uso parenteral está relacionada com a natureza do fármaco, em relação a suas características físicas e químicas. A preparação desta apresentação requer algumas diferenças, quando comparadas com outros medicamentos em solução: devem apresentar padrões especiais de pureza, alguns adjuvantes são proibidos como por exemplo corantes, devem passar pelo processo de esterilização e não devem possuir precipitados. (4)

Nesse sentido, a qualidade está diretamente relacionada ao corpo e as propriedades químicas do medicamento, enquanto eficácia e segurança estão relacionados à dose terapêutica e à formação de produtos de degradação. Em termos de eficácia, o efeito mais óbvio da instabilidade do fármaco é a redução da eficácia. As mudanças mais comuns e prováveis na estabilidade do fármaco podem ser causadas pela temperatura, umidade, luz, ar atmosférico, interações entre o fármaco e excipientes ou materiais de embalagem. Essas alterações podem ocorrer em diferentes velocidades, interferir nas propriedades organolépticas do fármaco e alterar profundamente a composição do fármaco, resultando na perda parcial ou total de sua atividade e na formação de produtos tóxicos. (5)

A estabilidade de um medicamento pode ser diretamente afetada por fatores externos e internos. Como fatores externos, podem ser mencionadas as condições ambientais, ou seja, temperatura, umidade relativa, luz, ar atmosférico, agentes biológicos e materiais de embalagem. Como fatores internos, são consideradas as propriedades físicas e químicas das substâncias ativas e excipientes farmacêuticos presentes na formulação; forma do medicamento; processo de fabricação; pH; tipo e propriedades dos materiais de embalagem. (5)

A luz é um importante fator ambiental que pode desencadear degradação e promove a instabilidade do fármaco. A absorção de luz por moléculas orgânicas leva a níveis aumentados a energia de várias moléculas, ocasionando o rompimento de ligações químicas e favorecendo a formação de radicais livres. Para minimizar os efeitos da luz nos medicamentos, o uso de embalagens âmbar e resistentes à luz são fundamentais neste processo. (5)

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), na Resolução da Diretoria Colegiada nº 301/2019 (RDC nº 301/2019) define como material de embalagem qualquer material empregado na embalagem de medicamentos, excluindo qualquer embalagem externa usada para transporte ou embarque e podem ser classificados como primários ou secundários, de acordo com o grau de contato com o produto. (6)

A embalagem deve garantir proteção ao produto de efeitos ambientais como água, umidade, luz, gases, odores, micro-organismos, sujeiras, choques, vibrações e forças de compressão. (4)

Portanto, o destaque do material de embalagem primário relaciona-se ao contato direto com o produto. Devido a essa importância, estes materiais são determinados durante o estudo de desenvolvimento do medicamento. (4)

As embalagens para injetáveis não devem ter interação química com a preparação para que não tenha interferências na potência ou eficácia. Os recipientes de dose única podem ser definidos como um recipiente hermeticamente fechado que contém quantidade para uma única aplicação, e quando for aberto, não poderá ser fechado outra vez. Estes recipientes podem ser acondicionados em ampolas ou frascos. (5)

2 OBJETIVOS

Apresenta-se nas seções abaixo o objetivo geral e os objetivos específicos da pesquisa.

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os estudos de fotodegradação da furosemida, através da análise de qualidade por cromatografia líquida de alta eficiência.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) reconhecer o perfil de fotodegradação qualitativo da furosemida;
- b) avaliar a eficácia do material de embalagem do produto furosemida injetável por meio de teste de estresse do produto em câmara de fotoestabilidade;
- c) demonstrar a eficácia da cromatografia líquida de alta eficiência na análise de teor e produtos de degradação da furosemida

3 DESENVOLVIMENTO

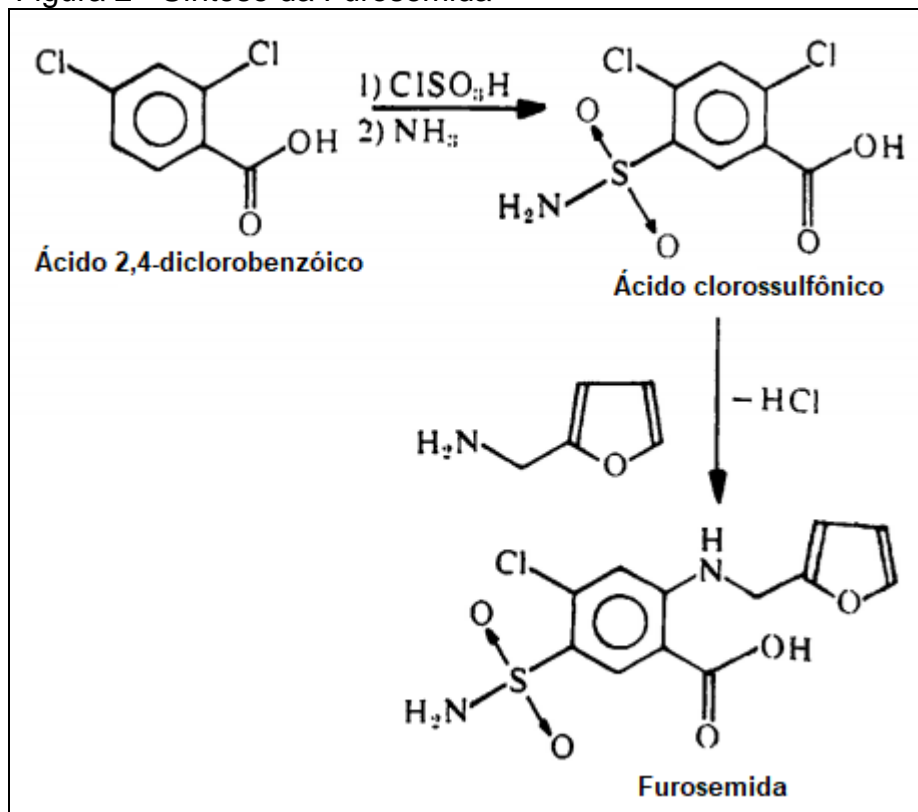
3.1 FUROSEMIDA

3.1.1 Características físico-químicas

A furosemida se apresenta como pó cristalino branco, ou quase branco e inodoro, é conhecida por ser um agente diurético potente, com efeito mais pronunciado do que as tiazidas ou acetazolamida. Segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica, a furosemida é classificada como fármaco classe IV, indicando baixa hidrossolubilidade e baixa permeabilidade. (1,3,7)

A obtenção da furosemida é feita a partir do tratamento do ácido 2,4-diclorobenzóico com ácido clorossulfônico a 150°C e submetendo o cloreto de sulfonila resultante à amonólise; o ácido 4-cloro-5-sulfamoilantranílico assim obtido, ao reagir com seis equivalentes de furfurilamina a 130°C durante 4 horas, forma a furosemida, por deslocamento aromático nucleofílico do cloro altamente ativado na posição 2, como mostra a Figura 2. (3)

Figura 2 - Síntese da Furosemida



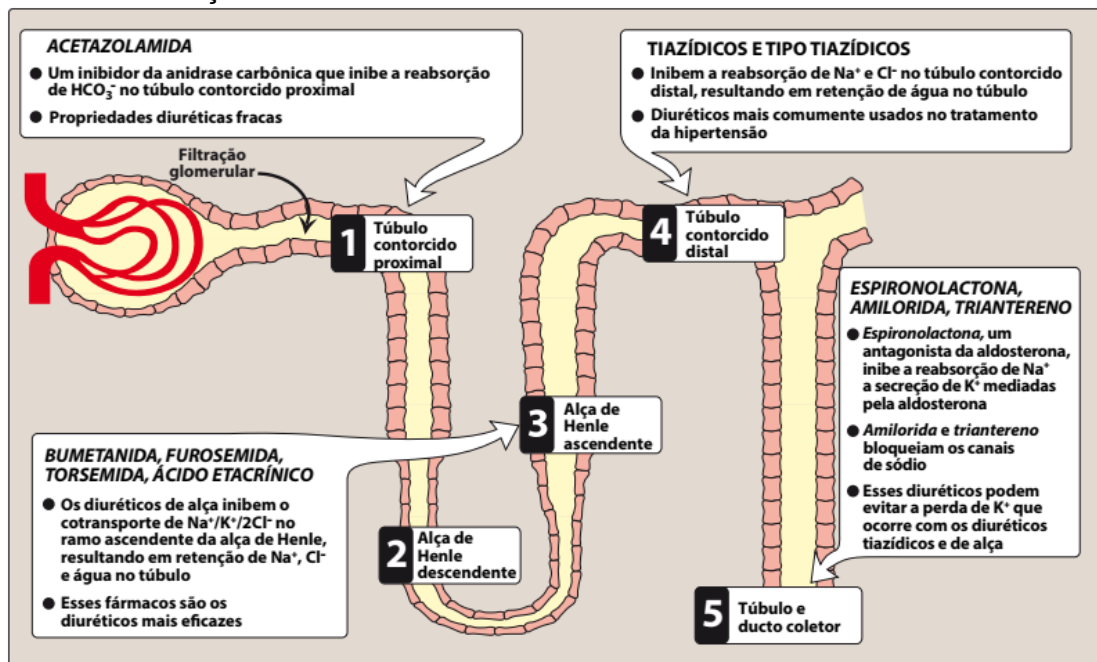
Fonte: (3)

3.1.2 Características farmacológicas

3.1.2.1 Farmacocinética

A furosemida é classificada como um diurético de alça (Figura 3), com rápida atuação no bloqueio da reabsorção de sódio e cloreto nos rins, agindo também em pacientes com má função renal ou nos que não respondem ao diurético tiazídico. É classificado como diurético de alça devido ao grande potencial inibidor do transportador de $\text{Na}^+/\text{K}^+/2\text{Cl}^-$, atuando sobre o seguimento espesso da alça de Helen. (8,9)

Figura 3 - Localizações principais de trocas de íons e água no néfron, mostrando os locais de ação dos diuréticos



Fonte: (8)

Os diuréticos de alça são comumente usados para tratar sintomas de insuficiência cardíaca e edema e raramente são usados para tratar a hipertensão. Esse tipo de medicamento provocam a redução da resistência vascular renal e aumento do fluxo sanguíneo renal, aumentando o volume de urina excretado. (9)

Possuem rápido início de ação, especialmente quando administrados por via intravenosa, devido a isso, são utilizados em emergências como edema pulmonar agudo. (8)

3.1.2.2 Farmacodinâmica

A droga tem alta farmacocinética quando tomada por via oral e é absorvida pelo intestino em cerca de uma hora. Quando administrado por injeção intravenosa, seu efeito dura até 30 minutos e seu efeito dura de duas a três horas. A meia-vida da furosemida é de aproximadamente 90 minutos em pacientes normais e prolongada em pacientes com insuficiência renal. Embora tenha boa permeabilidade no estômago e trato gastrointestinal superior, sua biodisponibilidade é baixa e variável. Apresenta-se Instável devido à baixa solubilidade no suco gástrico (5-20 µg/mL). (8,10)

Estudos comparativos entre a administração de furosemida por intravenosa *bolus* e a infusão contínua demonstra que o efeito após cada administração *bolus* dura cerca de 1 a 2 horas, voltando a reter água e sódio devido à ativação neuro-humoral entre as doses, enquanto a infusão contínua demonstra, em humanos, uma diurese mais intensa com menores alterações de volume intravascular do que uma dose equivalente cumulativa de 24 horas administrada *in bolus*, resultando em uma menor ativação neuro-humoral. Entretanto, a furosemida administrada *in bolus* pode resultar em alguns efeitos adversos, como a ototoxicidade (Quadro 1), dado a isso, a administração por infusão contínua sobressai por levar concentrações contínuas ao néfron. (10)

3.1.2.3 Efeitos adversos e principais interações medicamentosas

Os principais efeitos adversos da furosemida e dos diuréticos de alça estão dispostos no Quadro 1.

Quadro 1 - Efeitos adversos da furosemida

(CONTINUA)

Efeito	Definição
Ototoxicidade	Perda auditiva permanente ou reversível
Hiperuricemia	Crise de gota: a furosemida compete com o ácido úrico pelos sistemas secretores renais, bloqueando sua secreção
Hipovolemia aguda	Redução rápida e grave do volume sanguíneo, com possibilidade de hipotensão, choque e arritmias cardíacas

Quadro 2 - Efeitos adversos da furosemida

(CONTINUAÇÃO)

Depleção de potássio	A elevada oferta de Na ⁺ no túbulo coletor resulta no aumento da troca tubular de Na ⁺ por K ⁺ , com a possibilidade de indução de hipopotassemia. A perda de K ⁺ das células na troca por H ⁺ leva à alcalose com hipopotassemia.
Hipomagnesemia	O uso crônico de diuréticos de alça combinado com ingestão reduzida de Mg ²⁺ pode levar à hipomagnesemia, em particular nos idosos.

Fonte: (8)

Com o uso prolongado de furosemida, é comum o surgimento da hipomagnesemia (Quadro 1) e em alguns indivíduos a depleção de potássio. (9)

A furosemida apresenta sérias interações medicamentosas com diversos medicamentos de uso comum, como a gentamicina (antibacteriano), em que um medicamento aumenta a toxicidade do outro por sinergismo farmacodinâmico. O mesmo ocorre com a amicacina, neomicina (riscos de ototoxicidade e nefrotoxicidade) e tobramicina (antibacteriano). (8, 11)

3.2 FORMAS FARMACÊUTICAS LÍQUIDAS INJETÁVEIS

A farmacopeia Brasileira 6ª edição define solução injetável como uma preparação estéril destinada à administração parenteral e deve ter adicionado em sua preparação as substâncias adjuvantes, selecionadas com o intuito de aumentar a estabilidade do produto sem interferir na eficácia e segurança do medicamento, podendo agir também como solubilizante, antioxidante, quelante, tampão ou agente antibacteriano. (1)

Essas preparações de caráter estéril tem o objetivo de eliminar a carga microbiana em seu processo, garantindo a esterilidade e o aniquilamento de pirogênios (ou endotoxinas bacterianas), que são produtos metabólicos orgânicos originados de bactérias gram-negativa, podendo ocasionar febre e hipotensão em pacientes que recebem a aplicação de preparações parenterais. (4)

Os medicamentos injetáveis possuem algumas vantagens quando comparadas com outras formas farmacêuticas, como sua rápida ação em casos de

emergência, quando não há cooperação da parte do paciente ou quando este não estão conscientes para administrar o medicamento por outras vias. (4)

As apresentações de medicamentos parenterais diferem de todas as outras porque exigem cuidados especiais por serem injetadas diretamente no tecido corporal: seus solventes e veículos devem apresentar grau de pureza especial, o uso de corantes é proibido, os produtos devem ser sempre esterilizados, devem ser envasados em produtos hermeticamente fechados e sua produção deve ser em áreas controladas. O processo de esterilização para essa forma farmacêutica é fundamental, sendo utilizado os métodos de esterilização por vapor, por calor seco, por filtração, por gás e por radiação ionizante. Esta etapa do processo requer uma validação para garantir sua efetividade. (4,12)

Portanto, têm de ser excepcionalmente puras e livres de agentes contaminantes físicos, químicos e biológicos. Essas exigências impõem uma grande responsabilidade para as indústrias farmacêuticas para o uso da BPF (Boas Práticas de Fabricação). (12)

A instrução normativa nº 35, de 21 de agosto de 2019, que dispõe sobre as boas práticas de fabricação complementares a medicamentos estéreis, estabelece que a preparação de medicamentos estéreis deve ser realizada em áreas limpas e garantir um padrão de limpeza de todas as áreas e equipamentos envolvidos na produção. (13)

3.3 EMBALAGENS PRIMÁRIAS PARA INJETÁVEIS

Uma solução estável retém sua claridade original, cor e odor durante sua vida de prateleira. A retenção da claridade de uma solução é uma das principais preocupações do programa de estabilidade física. Como apenas a observação visual sob a luz normal é um teste inadequado de claridade, uma luz microscópica deve ser projetada dentro da solução. Partículas não dissolvidas irão dispersar a luz, e a solução irá parecer turva. (12)

As embalagens primárias de vidro para uso farmacêutico destinam-se a entrar em contato direto com produtos farmacêuticos, portanto, as embalagens para injetáveis, incluindo tampas, não devem interagir física ou quimicamente com a solução, para garantir que não haja alteração na sua potência e eficácia. Em casos

de ampolas de vidro, este pode ter coloração transparente ou âmbar, dependendo das características do medicamento. (4,14)

O vidro usado para embalagens primárias é vidro borossilicato (neutro) ou vidro de soda-cal-sílica. O vidro borossilicato contém quantidades significativas de óxidos e possui alta resistência hidrolítica e alta resistência ao choque térmico devido à composição química do próprio vidro, sendo classificado como vidro Tipo I. O vidro de soda-cal-sílica é um vidro de sílica contendo óxidos de metais alcalinos, sendo classificado como classificado como vidro Tipo III, tendo uma resistência hidrolítica mediana. (14)

Segundo a Farmacopeia Americana USP 43, os recipientes de vidro tipo I são adequados para a maioria dos produtos para uso parenteral e não parenteral. Os recipientes de vidro tipo II são adequados para a maioria dos produtos aquosos ácidos e neutros para uso parenteral e não parenteral e recipientes de vidro Tipo III geralmente não são usados para produtos parenterais ou para pós para uso parenteral. (14)

O vidro pode ser colorido para fornecer proteção contra a luz pela adição de pequenas quantidades de óxidos metálicos, garantindo uma menor transmissão espectral, ensaio analítico requerido no capítulo geral da Farmacopeia Americana e é testado conforme descrito em Transmissão espectral para recipientes de vidro colorido capítulo 660. (14)

A qualidade e o tipo do vidro vão ser determinados de acordo com o tipo de medicamento e sua aplicação, podendo ser recipiente de dose única (recipiente hermeticamente fechado, estéril, que contém uma única dose e que depois de aberto não poderá ser fechado novamente) e recipientes de doses múltiplas (hermeticamente fechado, porém, permite retiradas sucessivas sem prejudicar a qualidade do medicamento), como mostra a Figura 4. (4)

Figura 4 - Produtos injetáveis acondicionados em frascos de doses múltiplas e dose única.



Fonte: (4)

3.4 CONTROLE DE QUALIDADE DE MEDICAMENTOS INJETÁVEIS

O controle de qualidade de medicamentos é a parte responsável pela amostragem de matérias-primas, materiais de embalagem, amostras de controles em processo e de produtos intermediários e acabados para análise e avaliação da qualidade. Portanto, é de extrema importância para garantir a qualidade, segurança e eficácia do produto. (6,15)

Também é responsável pela avaliação físico-química de materiais de embalagem, sendo verificado perda e/ou migração de compostos, passagem de luz e permeação de produtos. O ensaio analítico designado por classificar o tipo do vidro, como I, II ou III é o de resistência hidrolítica ou alcalinidade, que vai avaliar a interação da reação química da água com os compostos alcalinos do vidro. (1,4,14)

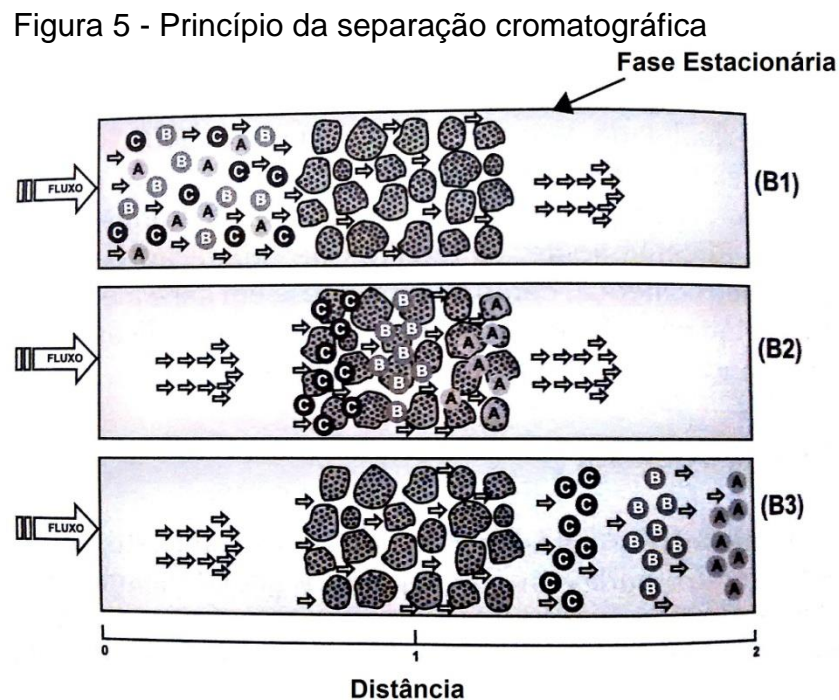
Para os medicamentos injetáveis, uma série de ensaios analíticos físico-químicos e microbiológicos particulares são requeridos como uniformidade de doses unitárias, limpidez de líquidos (pela Farmacopeia Americana 43 é denominada de claridade de soluções), contagem de partículas sub-visíveis, esterilidade e endotoxinas bacterianas (ensaio de pirogênio). (1,14).

A análise do conteúdo e dos produtos de degradação é fundamental para a liberação de qualquer medicamento e, para isso, são necessários métodos

específicos para cada medicamento. Os métodos analíticos são divididos em métodos clássicos e métodos instrumentais. Os métodos clássicos são baseados em reações químicas nas quais fatores como detecção de ponto crítico ou formação de precipitado devem ser claramente definidos. A abordagem instrumental baseia-se na utilização de certos instrumentos modernos adequados, que se destacam pela sua maior sensibilidade. (16,17)

No entanto, técnicas de instrumentação eficientes estão começando a substituir os métodos clássicos e manuais. Entre os principais métodos instrumentais da área farmacêutica destacam-se a espectroscopia UV-Vis e Infravermelho, espectroscopia de fluorescência (fluorescência), absorção atômica e técnicas de cromatografia. (16,17)

A cromatografia é uma técnica de separação muito eficiente e pode ser aplicada em diversos ramos da ciência, sendo realizada através da distribuição destes componentes entre duas fases, uma móvel e outra estacionária, ambas em contato direto com o analito. As duas fases são escolhidas de modo que os componentes da amostra se espalhem entre fase móvel e estacionária em graus diferenciados, como mostra a Figura 5. (16,17)



Fonte: (16)

Na Figura 5 são expostas as propriedades das fases móvel e estacionária. Na Tabela B1 olhamos como a amostra é injetada e passa pela fase móvel, e na Tabela B2 o analisador passa pela fase estacionária. A tabela B3 mostra que as moléculas ao se desanexar e o composto A eluiu primeiro, devido à maior afinidade com a fase móvel, enquanto o composto C foi o último a eluir, apresentando maior afinidade com a fase estacionária.

3.5 ESTUDO DE ESTABILIDADE

O estudo de estabilidade tem o intuito de avaliar a qualidade do medicamento ou insumo farmacêutico ativo (IFA) em função do tempo, considerando a influência de diversos fatores ambientais, como temperatura, umidade e luz, somados com os compostos do próprio produto oriundos de sua formulação: IFA, excipientes, forma farmacêutica, processo produtivo e materiais de embalagem. (18)

A avaliação da estabilidade do medicamento é necessária para a prevenção e previsão de problemas relacionados à qualidade do produto durante o período de sua validade, como a verificação de perda de teor ou monitoramento de formação de produtos de degradação, que podem aumentar a toxicidade do produto. (19)

3.5.1 Estudo de fotoestabilidade

A fotodegradação de um medicamento é iniciada após a absorção a absorção de radiação eletromagnética, portanto, a radiação ultravioleta é muito energética e pode propiciar a clivagem de muitas ligações químicas, ocorrendo a degradação da molécula. A fotodegradação de medicamentos pode conduzir à perda de princípios ativos e assim à perda na sua eficiência, além de formar subprodutos ou intermediários tóxicos de vida curta, como por exemplo radicais livres. (19,20)

A primeira lei da fotoquímica, desenvolvida por Grotthus em 1817, propõe que apenas radiações que são absorvidas por moléculas podem ser efetivas na promoção de mudanças fotoquímicas nesta molécula. Muito embora, medicamentos que absorvem radiação eletromagnética nem sempre sofrem fotodegradação. Essa teoria pode ser explicada pela Equação 1 (21):

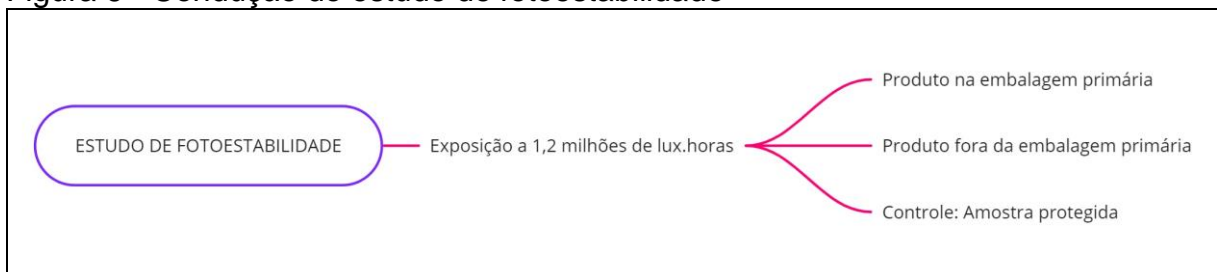


Onde F é o fármaco, $h\nu$ a radiação eletromagnética e F^* é o fármaco em um estado eletronicamente excitado. (21)

A RDC nº 318 de 2019 que dispõe os critérios para a realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos (IFA) e medicamentos, define como estudo de fotoestabilidade aquele que tem como finalidade demonstrar que o IFA ou medicamento, quando exposto à luz mantém-se dentro das especificações. Este estudo é conduzido a fim de quantificar a dimensão pela qual a reação emitida pela luz atinge a formulação. Portanto, o estudo deve demonstrar quais os efeitos da exposição à luz na qualidade do produto. (18,21)

Para o desenvolvimento do estudo, as amostras devem ser expostas a, no mínimo, 1,2 milhões de lux.horas e uma energia de ultravioleta próxima de no mínimo 200 watt.horas/m². O estudo deve ser realizado no medicamento fora da sua embalagem primária, na embalagem primária e deve ser feito um controle, com a amostra protegida da luz (Figura 6). Caso não haja resultado fora da especificação, o produto será considerável fotoestável desde que se mantenha em sua embalagem primária. (18)

Figura 6 - Condução do estudo de fotoestabilidade



Fonte: Elaborado pela autora.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os materiais, reagentes, solventes e fármacos, assim como todas as análises foram, gentilmente, fornecidos pelo Laboratório Farmacêutico Santisa, da cidade de Bauru, Estado de São Paulo.

4.1 MATERIAIS

4.1.1 Reagentes e solventes

- a) Acetonitrila (Merck®);
- b) Metanol (Merck®);
- c) Ácido fosfórico (Merck®);
- d) Hidróxido de Sódio (Synth®);
- e) Água ultrapura
- f) Peróxido de Hidrogênio (Synth®);
- g) Trietilamina (Nuclear®);
- h) Furosemida SQR (Padrão primário USP);
- i) Impureza A da Furosemida SQR (Padrão primário USP);
- j) Impureza B da Furosemida SQR (Padrão primário USP).

4.1.2 Medicamento utilizado

- a) Furosantisa 20mg/2mL Solução injetável

4.1.3 Equipamentos e acessórios

As análises foram realizadas em um aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência, o CLAE, modelo *1100 LC system* da *Agilent Technologies*, utilizando uma coluna *Zorbax SB - C18* (4,6 x 150 mm; 5 µm) da *Agilent Technologies*.

Para a análise de fotodegradação foi utilizada uma câmara de fotoestabilidade da marca Nova Ética, modelo 424/CF.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Condições cromatográficas

Quadro 2 - Condições Cromatográficas para método de análise do produto Furosantisa 20mg/2mL

Condições Cromatográficas	
Coluna	Zorbax SB - C18 (4,6 x 150 mm; 5 µm)
Comprimento de onda	274 nm
Volume de injeção	10 µL
Fluxo	1,0 mL/min
Temperatura da coluna	25°C (± 1°C)
Água	Ultra purificada – MilliQ®
Diluyente	Metanol:Água (7:3, v/v)
Composição da fase móvel	Fase móvel A: Tampão fosfato pH 2,9 Fase móvel B: Acetonitrila Fase Móvel C: Metanol
Gradiente	Segmentado
Tempo de corrida	60 minutos

Fonte: Elaborado pela autora

Quadro 3 - Programação do Gradiente da Fase Móvel.

Tempo (minutos)	Fase Móvel A (%)	Fase Móvel B (%)	Fase Móvel C (%)
0	80	7	13
5	80	7	13
6	63	7	30
50	63	7	30
51	80	7	13
60	80	7	13

Fonte: Elaborado pela autora

4.2.2 Preparo de soluções

4.2.2.1 Solução de Hidróxido de sódio 50% (p/V)

Pesar 50 g de hidróxido de sódio P.A. e transferir para béquer contendo 100

mL de água purificada e homogeneizar.

4.2.2.2 Fase móvel A

Adicionar 0,7 mL de ácido fosfórico P.A. em 1000 mL de água purificada e homogeneizar. Ajustar o pH para $2,90 \pm 0,05$ com solução de hidróxido de sódio 50%, homogeneizar e filtrar em membrana 0,45 μm PVDF e desgaseificar.

4.2.2.3 Solução diluente

Preparar uma solução Metanol:Água (7:3, v/v) e homogeneizar.

4.2.2.4 Solução padrão e adequação – Avaliação de teor

Pesar, analiticamente, 15,0 mg de Furosemida SQR. Transferir para balão volumétrico de 10,0 mL. Adicionar cerca de 5,0 mL de diluente e levar ao ultrassom até completa solubilização. Completar o volume com diluente e homogeneizar. Transferir para vial através de filtro PVD/F 0,45 μm (Concentração: 1,5 mg/mL de Furosemida SQR)

4.2.2.5 Solução padrão – Avaliação de produtos de degradação

Pesar, analiticamente, 15,0 mg de Furosemida SQR e transferir para balão volumétrico de 10,0 mL. Adicionar cerca de 5,0 mL de diluente e levar ao ultrassom até completa solubilização. Completar o volume com diluente e homogeneizar (Concentração: 1,5 mg/mL de furosemida).

Pesar, analiticamente, 10,0 mg de Impureza A (SQR) e transferir para balão volumétrico de 20,0 mL. Adicionar cerca de 10,0 mL de diluente e levar ao ultrassom até completa solubilização, completar o volume com diluente e homogeneizar. (Concentração: 0,50 mg/mL de Impureza A).

Em um balão volumétrico âmbar de 25 mL, transferir volumetricamente 0,050 mL da Solução Estoque de Furosemida e 0,150 mL da Solução Estoque de Impureza A. Completar volume do balão com diluente e homogeneizar, transferir para um vial (Concentração: 0,0030 mg/mL de furosemida e 0,0030 mg/mL de

Impureza A).

4.2.2.6 Solução da amostra

Determinar a densidade da amostra: homogeneizar o conteúdo de 10 ampolas de Furosantisa/Furosemida Solução Injetável 20mg/2mL e determinar a densidade a uma temperatura de 20°C através da Equação (2).

$$D = \frac{m}{V} \quad (2)$$

Em que “D” é a densidade em g/mL, “m” a massa do produto (g) e “V” o volume (mL).

Após determinar a densidade, pesar 1,5 mL de Furosantisa Injetável 20mg/2mL (equivalente a 15mg de furosemida). Transferir para balão volumétrico de 10,0 mL, adicionar 7,0 mL de diluente e levar para ultrassom por 5 minutos. Completar o volume com diluente e homogeneizar. Transferir para vial através de filtro PVD/F 0,45 µm (Concentração: 1,5 mg/mL de Furosemida).

4.2.2.7 Solução de Impureza B

Pesar, analiticamente, 10,0 mg de Impureza B (SQR) e transferir para balão volumétrico de 20,0 mL. Adicionar cerca de 10,0 mL de diluente e levar ao ultrassom até completa solubilização, completar o volume com diluente e homogeneizar. (Concentração: 0,50 mg/mL de Impureza B). Transferir 0,300 mL de Solução Estoque de Impureza B para um balão volumétrico de 10,0 mL. Completar o volume com diluente e homogeneizar, transferir para vial (Concentração: 0,0150 mg/mL de Impureza B).

4.2.3 Procedimento para análise de teor

Preparar 1 (uma) Solução de Adequação de Sistema (Teor) e injetar uma sequência de adequação com 6 (seis) réplicas. Injetar 10 µL de 2 (duas) Soluções Amostra e calcular a concentração de furosemida presente na amostra através da

Equação (3). A Equação (4) indica a concentração em porcentagem da Furosemida na solução da amostra.

$$Teor\ de\ furosemida\ (mg/mL) = \frac{A_{am} \times M_{pd} \times Pot \times 10 \times D \times 1000}{A_{pd} \times 10 \times M_{am}} \quad (3)$$

Em que:

- A_{am} = Área do pico de furosemida na solução amostra
- M_{pd} = Massa pesada do padrão de furosemida (mg)
- Pot = Potência do padrão de furosemida (mg/mg)
- D = Densidade do produto Furosantisa (g/mL)
- 10 = Volume utilizado para a diluição da solução amostra (mL)
- A_{pd} = Média das áreas do pico de furosemida obtida na adequação de sistema;
- M_{am} = Massa pesada de amostra (mg)
- 1000 = Fator de correção para conversão de unidade de massa de g para mg.

$$Teor\ de\ furosemida\ (\%) = \frac{Teor\ \left(\frac{mg}{mL}\right) \times 100}{10} \quad (4)$$

4.2.4 Procedimento para análise de produtos de degradação

Preparar 1 (uma) Solução de Adequação de Sistema (Produtos de degradação) e injetar uma sequência de adequação com 6 (seis) réplicas. Injetar 1 (uma) Solução Padrão de Impureza B, 2 (duas) Soluções Amostra. Calcular a concentração de Impureza B presente na amostra através da Equação (5):

$$Impureza\ B\ (\%) = \frac{A_{imp} \times M_{pd} \times 0,300 \times Pot \times D \times 100 \times 1000}{A_{pd} \times 20 \times M_{am} \times VN} \quad (5)$$

Em que:

- imp = Área do pico de Composto Relatado B na solução amostra
- mpd = Massa pesada do padrão de furosemida impureza B (mg)
- Pot = Potência do padrão (mg/mg)

- 0,300; 20 = Volumes relativos à diluição do padrão (mL)
- D = Densidade da amostra (g/mL)
- 100 = Conversão para porcentagem
- Apd = Área do pico de Impureza B na Solução Padrão Impureza B
- Mam = Massa da amostra (mg)
- VN = Valor nominal de furosemida por unidade (10 mg/mL)
- 1000 = Fator de correção para conversão de g para mg

Calcular a concentração de Impurezas Desconhecidas/Produtos de Degradação presentes na amostra através da Equação 6. Calcular o total de impurezas presentes nas amostras através da Equação 7.

$$\text{Impurezas Desconhecidas (\%)} = \frac{A_{imp} \times M_{pd} \times 0,050 \times Pot \times D \times 100 \times 1000}{A_{pd} \times 25 \times M_{am} \times VN} \quad (6)$$

Em que:

- A_{imp} = Área do pico da impureza na solução amostra
- m_{pd} = Massa pesada do padrão de furosemida na Solução Estoque de furosemida (mg)
- Pot = Potência do padrão de furosemida (mg/mg)
- 0,050; 25 = Volumes relativos à diluição do padrão (mL)
- D = Densidade da amostra (g/mL)
- 100 = Conversão para porcentagem
- A_{pd} = Média das áreas do pico de furosemida na solução adequação
- m_{am} = Massa da amostra (mg)
- VN = Valor nominal de furosemida por unidade (10 mg/mL)
- 1000 = Fator de correção para conversão de g para mg

$$\text{Impurezas Totais} = \sum \% \text{Impurezas}_{conhecidas} + \sum \% \text{Impurezas}_{desconhecidas} \quad (7)$$

4.2.5 Execução da fotoestabilidade

Separar a quantidade necessária de amostras para a execução do teste, sendo elas divididas em: Amostra controle (ampola protegida com papel alumínio), Amostra dentro da embalagem primária (ampola de vidro âmbar) e produto fora da

embalagem primária (acondicionado em erlenmeyer transparente tampado para que não haja oxidação). Colocar as amostras na câmara de fotoestabilidade e iniciar o ciclo de exposição (60 horas). Analisar as amostras em triplicata.

4.2.6 Critérios de especificação

Os critérios de especificação para os ensaios analíticos de teor e produtos de degradação estão dispostos no Quadro 4.

Quadro 4 - Critérios de especificação do produto Furosemida 20mg/2mL.

Ensaio	Critérios
Teor	Entre 90,00% e 110,00% de Furosemida (Entre 9,00 mg/mL e 11,00 mg/mL).
Produtos de degradação	Impureza B: No máximo 1,00%
	Produtos de degradação/Impurezas desconhecidas: No máximo 0,20%

Fonte: Elaborado pela autora

A descrição do produto deve apresentar-se como uma solução límpida e incolor.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 ADEQUAÇÃO DE SISTEMA (AVALIAÇÃO DE TEOR)

A primeira parte do experimento consiste em avaliar a média das áreas do padrão de referência na solução de adequação de sistema para avaliação de teor, que foi injetada seis réplicas. O resultado das áreas está disposto na Tabela 1.

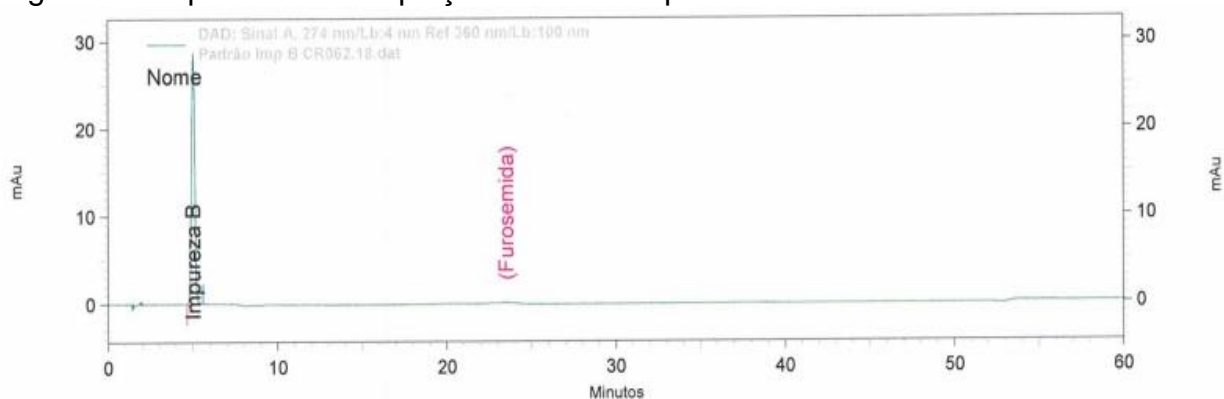
Tabela 1 – Áreas dos picos da Furosemida na solução de adequação de sistema do teor

Réplica	Área do pico de Furosemida
Réplica 1	96975253
Réplica 2	97044334
Réplica 3	97049583
Réplica 4	97118581
Réplica 5	97060547
Réplica 6	97166085
Média das réplicas	97069064

Fonte: Elaborado pela autora

Portanto, a área a ser considerada para avaliar o teor do produto em estudo de fotoestabilidade é de 97069064 (Equação 3). A Figura 7 demonstra a réplica 1, em que o tempo de retenção do composto furosemida em aproximadamente 23,8 minutos.

Figura 7 - Réplica 1 da adequação de sistema para o ensaio de Teor.



Fonte: Elaborado pela autora

5.2 ADEQUAÇÃO DE SISTEMA (AVALIAÇÃO DE PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO)

Para a determinação de impurezas desconhecidas e produtos de degradação, foi determinada a média das áreas do padrão de referência na solução de adequação de sistema para avaliação de produtos de degradação, que foi injetada seis réplicas. O resultado das áreas está disposto na Tabela 2.

Tabela 2 – Áreas dos picos da Furosemida na solução de adequação de sistema de produtos de degradação

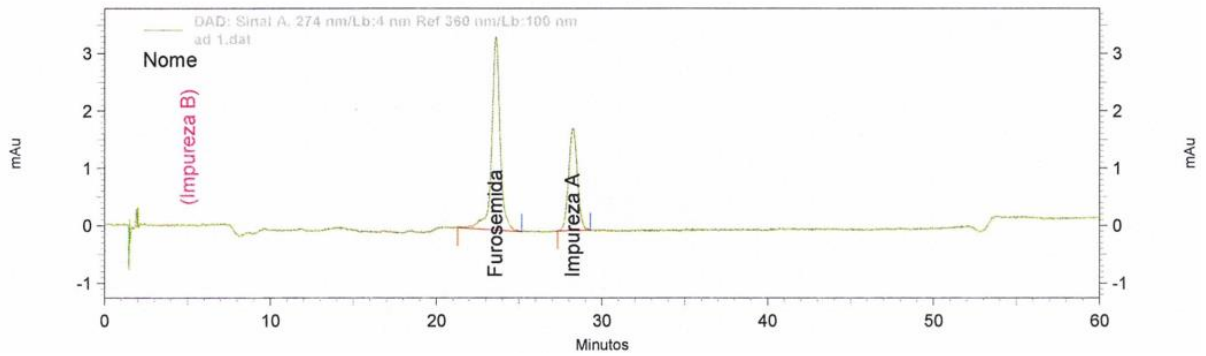
Réplica	Área do pico de Furosemida
Réplica 1	252741
Réplica 2	248144
Réplica 3	250170
Réplica 4	245858
Réplica 5	245806
Réplica 6	252366
Média das réplicas	249181

Fonte: Elaborado pela autora

Com base nos resultados obtidos, a área a ser considerada para avaliar impurezas desconhecidas e produtos de degradação no estudo de fotoestabilidade é

de 249181 (Equação 6). A Figura 8 demonstra a réplica 1, em que o tempo de retenção do composto furosemida em aproximadamente 23,8 minutos.

Figura 8 - Réplica 1 da adequação de sistema para o ensaio de Produtos de Degradação.

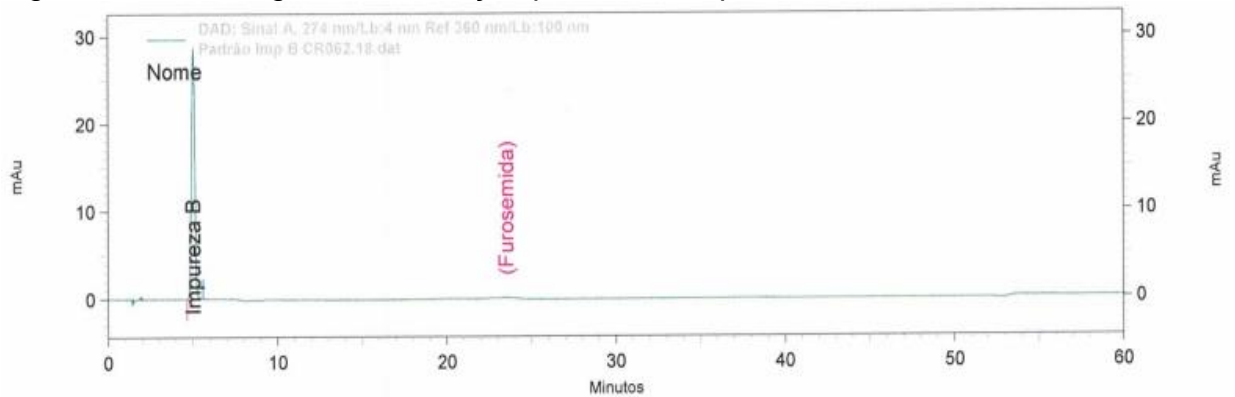


Fonte: Elaborado pela autora

5.3 PADRÃO DE IMPUREZA B

A Figura 9 demonstra o cromatograma obtido para a solução de padrão de impureza B, com um tempo de retenção de aproximadamente 5 minutos.

Figura 9 - Cromatograma da solução padrão de impureza B



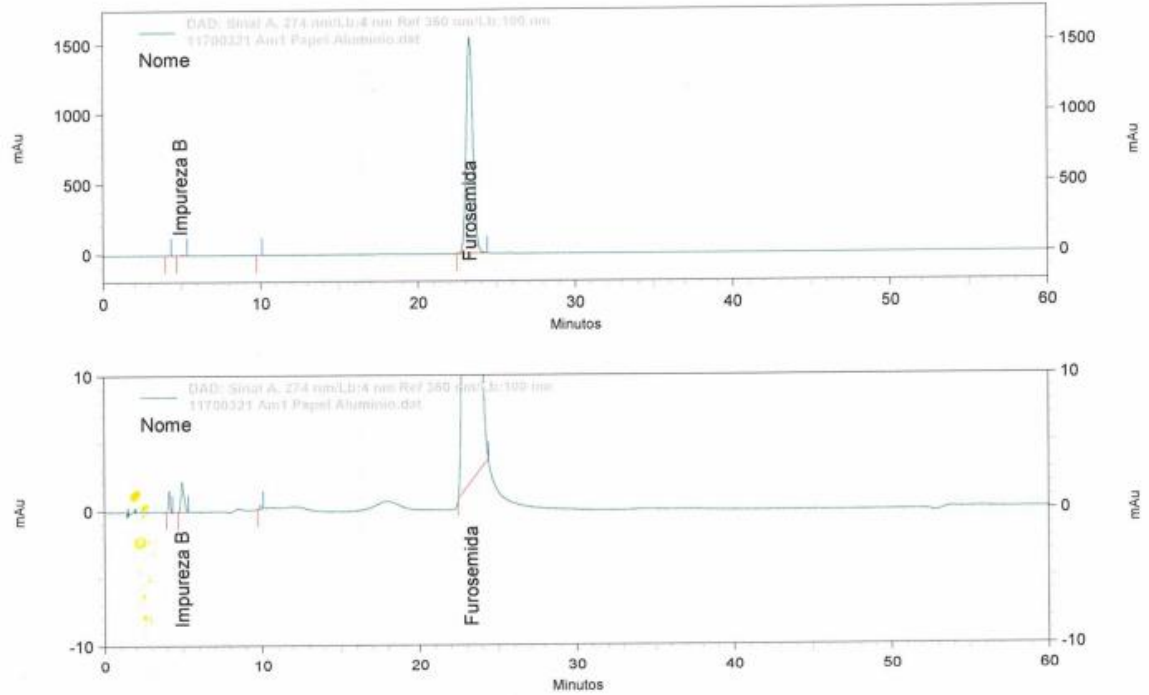
Fonte: Elaborada pela autora.

A área obtida para o padrão de impureza B foi de 806783, que será utilizada para calcular a impureza B na amostra (Equação 5).

5.4 AMOSTRA CONTROLE

A amostra controle foi executada em triplicada. Seus cromatogramas estão demonstrados nas Figura 10, 11 e 12.

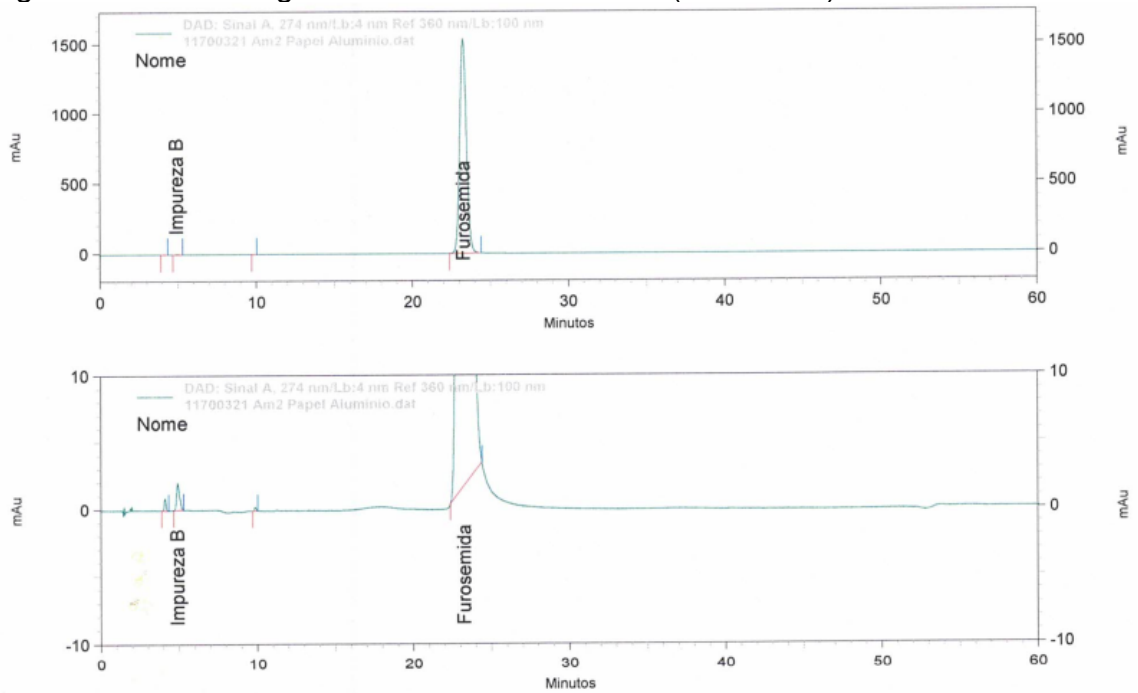
Figura 10 - Cromatograma da Amostra controle (Amostra 1)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Cromatograma abaixo está no zoom de -10 a 10 mAu.

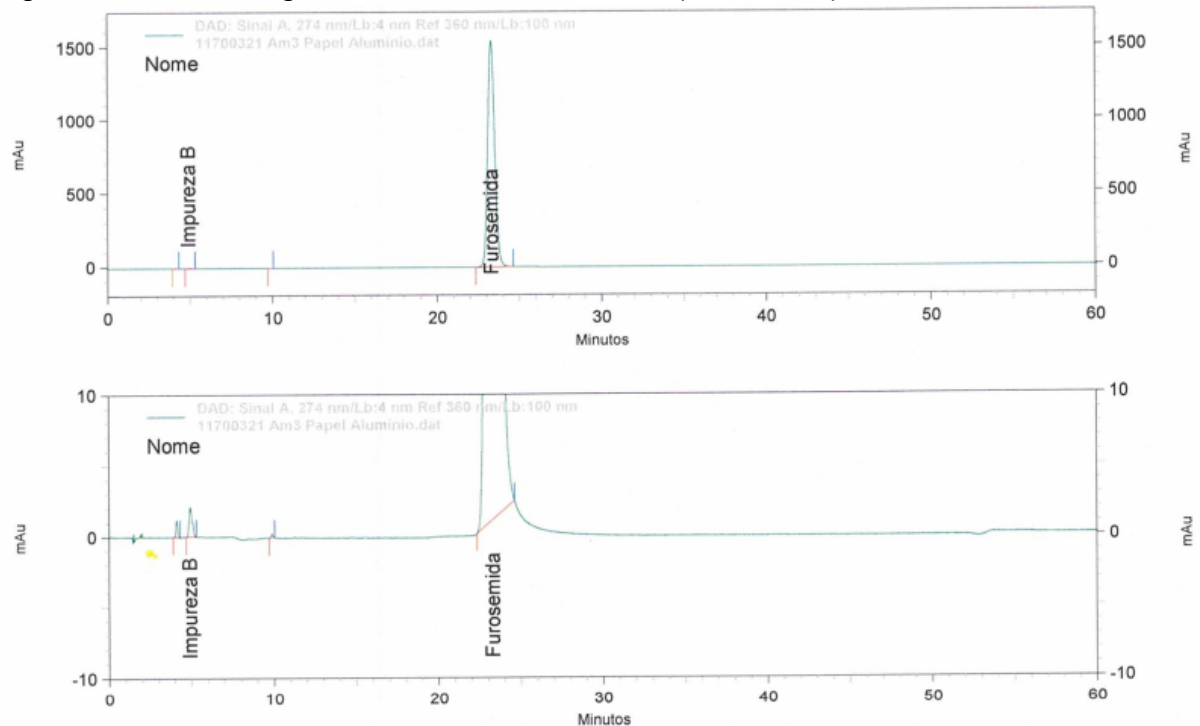
Figura 11 - Cromatograma da Amostra controle (Amostra 2)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Cromatograma abaixo está no zoom de -10 a 10 mAu.

Figura 12 - Cromatograma da Amostra controle (Amostra 3)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Cromatograma abaixo está no zoom de -10 a 10 mAu.

Avaliando os cromatogramas (Figuras 10, 11 e 12), pode-se perceber que a amostra controle apresenta tempo de retenção da Furosemida coerente com o padrão de referência (~ 24 minutos) e também há a presença da impureza B e duas impurezas desconhecidas, o mesmo ocorreu para as réplicas 2 e 3. As áreas obtidas e seus respectivos resultados estão dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados obtidos nas amostras controle.

(CONTINUA)

Replicata	Pico	Área	Concentração
Réplica 1	Furosemida	95286170	99,45%
	Impureza B	63381	0,079%
	Impureza desconhecida (TRR±0,17)	24457	0,020%
	Impureza desconhecida (TRR±0,40)	4690	0,004%
Réplica 2	Furosemida	95878457	100,23%
	Impureza B	56552	0,070%
	Impureza desconhecida (TRR±0,17)	14034	0,011%

Tabela 3 – Resultados obtidos nas amostras controle.

(CONCLUSÃO)			
Réplica 2	Impureza desconhecida (TRR±0,40)	4384	0,004%
Réplica 3	Furosemida	95909592	100,18%
	Impureza B	18653	0,074%
	Impureza desconhecida (TRR±0,17)	18653	0,015%
	Impureza desconhecida (TRR±0,40)	4531	0,004%

Fonte: Elaborado pela autora

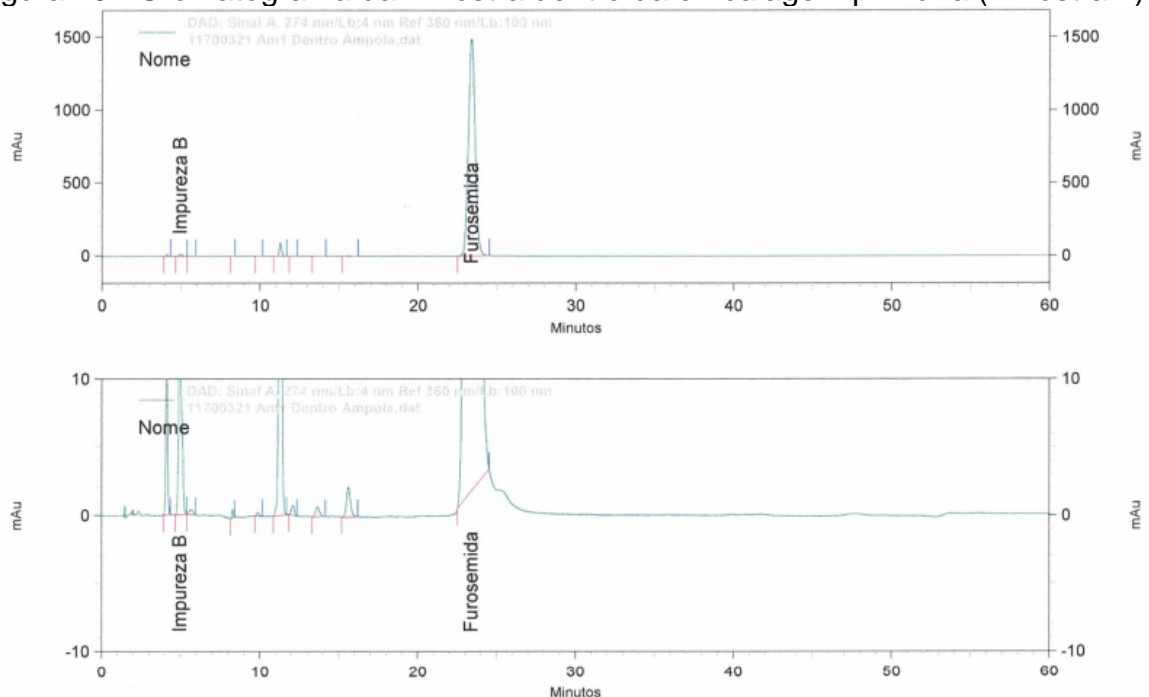
Nota: TRR = Tempo de retenção relativo

É possível observar que a amostra controle apresenta-se dentro do especificado, descrito no Quadro 4. Portanto, a exposição da luz no produto vedado valida o ensaio, garantindo que não houveram resultados fora de especificado.

5.5 AMOSTRA DENTRO DA EMBALAGEM PRIMÁRIA

A amostra dentro da embalagem primária foi executada em triplicada e emitiu cromatogramas demonstrados nas Figura 13,14 e 15, demonstrando as amostras injetadas.

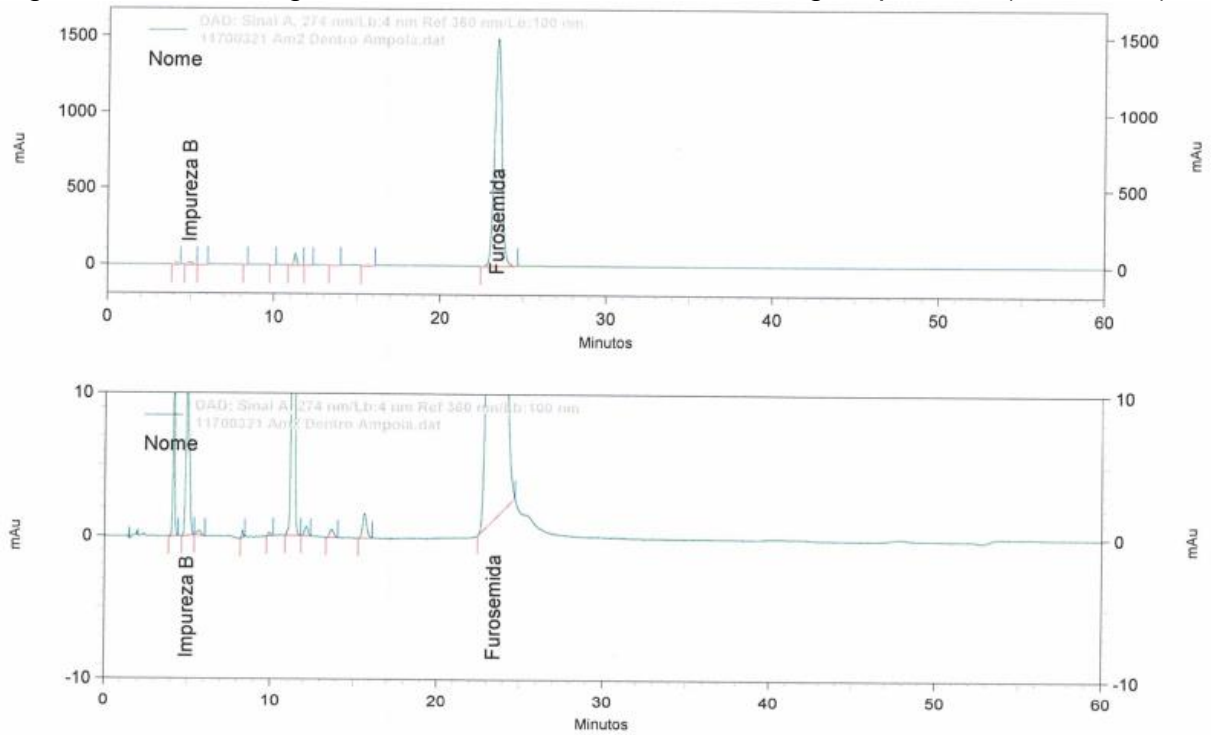
Figura 13 - Cromatograma da Amostra dentro da embalagem primária (Amostra 1)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Cromatograma abaixo está no zoom de -10 a 10 mAu.

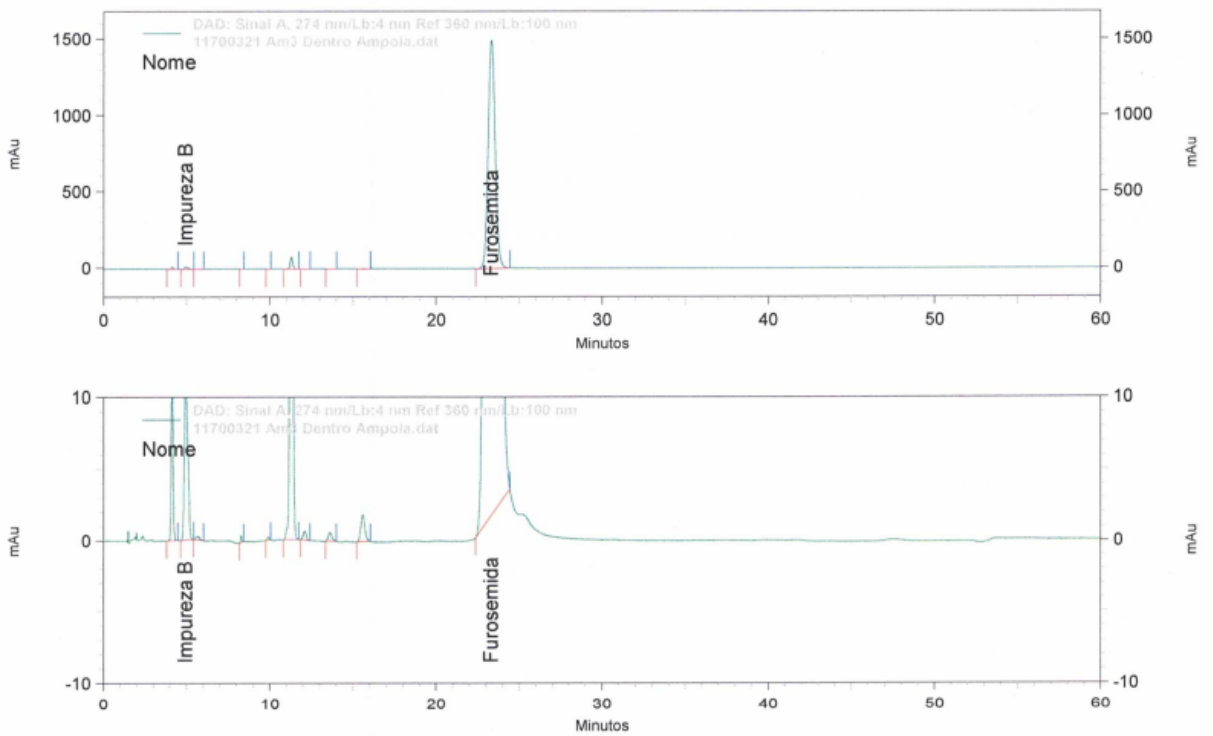
Figura 14 - Cromatograma da Amostra dentro da embalagem primária (Amostra 2)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Cromatograma abaixo está no zoom de -10 a 10 mAu.

Figura 15 - Cromatograma da Amostra dentro da embalagem primária (Amostra 3)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Cromatograma abaixo está no zoom de -10 a 10 mAu.

Notou-se que a amostra dentro da embalagem primária, sem a proteção do papel alumínio, apresenta mais picos referentes a compostos desconhecidos. O pico característico de furosemida emitiu seu sinal coerente com o padrão primário (~ 24 minutos), bem como a impureza conhecida B (~ 6 minutos). A presença destes compostos indica sinais de degradação do produto, o que fica comprovado com o valores encontrados para a Furosemida (ativo) e demais compostos, descritos na Tabela 4.

Tabela 4 – Resultados obtidos nas amostras dentro da embalagem primária.

(CONTINUA)

Replicata	Pico	Área	Concentração
Réplica 1	Furosemida	92711599	96,39%
	Impureza B	398558	0,493%
	Impureza desconhecida (TRR±0,17)	203230	0,165%
	Impureza desconhecida (TRR±0,23)	11907	0,010%
	Impureza desconhecida (TRR±0,34)	6954	0,006%
	Impureza desconhecida (TRR±0,40)	5460	0,004%
	Impureza desconhecida (TRR±0,47)	1895066	1,535%
	Impureza desconhecida (TRR±0,50)	19594	0,016%
	Impureza desconhecida (TRR±0,57)	25775	0,021
	Impureza desconhecida (TRR±0,64)	76993	0,062%
Réplica 2	Furosemida	92566519	96,26%
	Impureza B	346241	0,428%
	Impureza desconhecida (TRR±0,17)	180022	0,146%
	Impureza desconhecida (TRR±0,23)	11450	0,090%
	Impureza desconhecida (TRR±0,34)	5987	0,005%
	Impureza desconhecida (TRR±0,40)	4842	0,004%
	Impureza desconhecida (TRR±0,47)	1574349	1,276%
	Impureza desconhecida (TRR±0,50)	18482	0,015%
	Impureza desconhecida (TRR±0,57)	20084	0,016%

Tabela 4 – Resultados obtidos nas amostras dentro da embalagem primária.

(CONCLUSÃO)

Réplica 2	Impureza desconhecida (TRR \pm 0,64)	62377	0,051%
Réplica 3	Furosemida	92336724	96,19%
	Impureza B	358623	0,444%
	Impureza desconhecida (TRR \pm 0,17)	184595	0,150%
	Impureza desconhecida (TRR \pm 0,23)	8210	0,007%
	Impureza desconhecida (TRR \pm 0,34)	5661	0,005%
	Impureza desconhecida (TRR \pm 0,40)	3579	0,003%
	Impureza desconhecida (TRR \pm 0,47)	1615761	1,311%
	Impureza desconhecida (TRR \pm 0,50)	17270	0,014%
	Impureza desconhecida (TRR \pm 0,57)	20808	0,017%
	Impureza desconhecida (TRR \pm 0,64)	67801	0,055%

Fonte: Elaborado pela autora

Nota: TRR = Tempo de retenção relativo

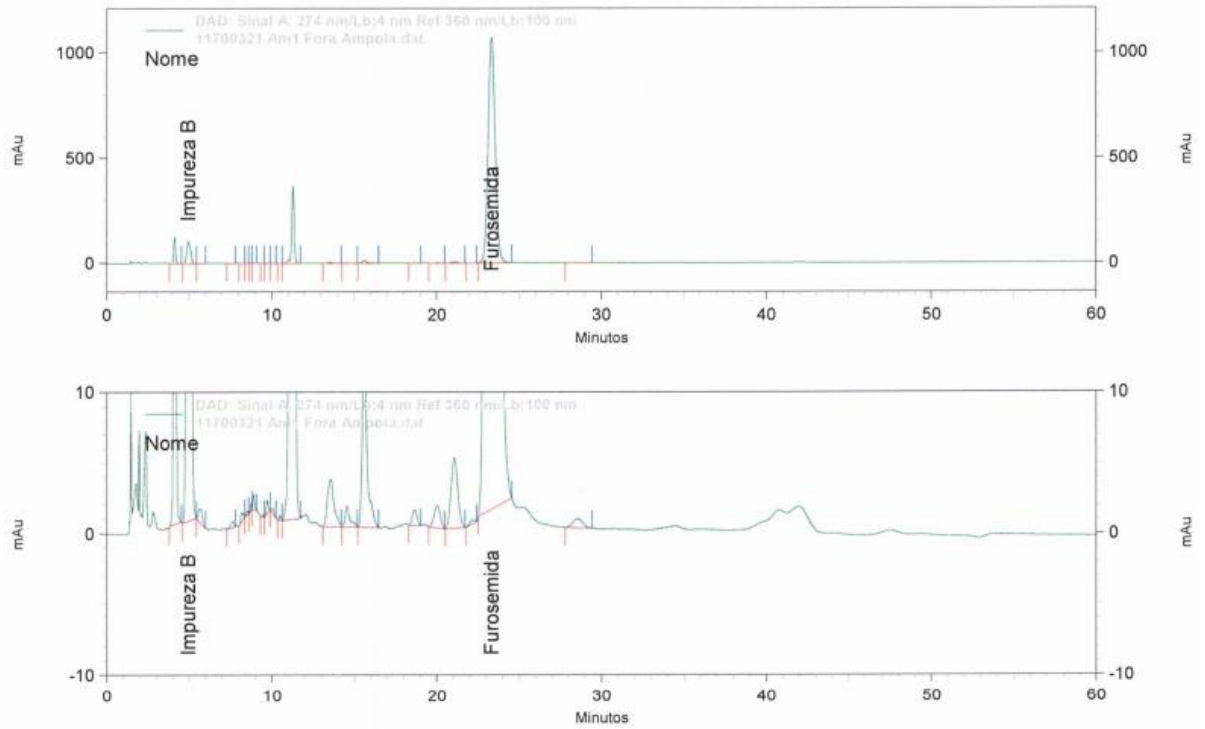
Avaliando a Tabela 4, é possível perceber que a amostra dentro do material de embalagem sem a proteção apresenta 8 compostos desconhecidos a mais do que a amostra controle, identificados pelos tempos de retenção relativo: 0,23; 0,34; 0,47; 0,50; 0,57 e 0,64, enquanto a impureza de TRR de 0,17 teve um aumento extremamente significativo de aproximadamente 0,15%.

Também há uma queda no teor de aproximadamente 4%, indicando assim, sinais nítidos de degradação do produto. Apesar destes sinais, todos os resultados ficaram dentro do especificado.

5.6 AMOSTRA FORA DA EMBALAGEM PRIMÁRIA

A amostra fora da embalagem primária foi executada em triplicada e foram emitidos cromatogramas demonstrados nas Figuras 16, 17 e 18, demonstrando as amostras injetadas.

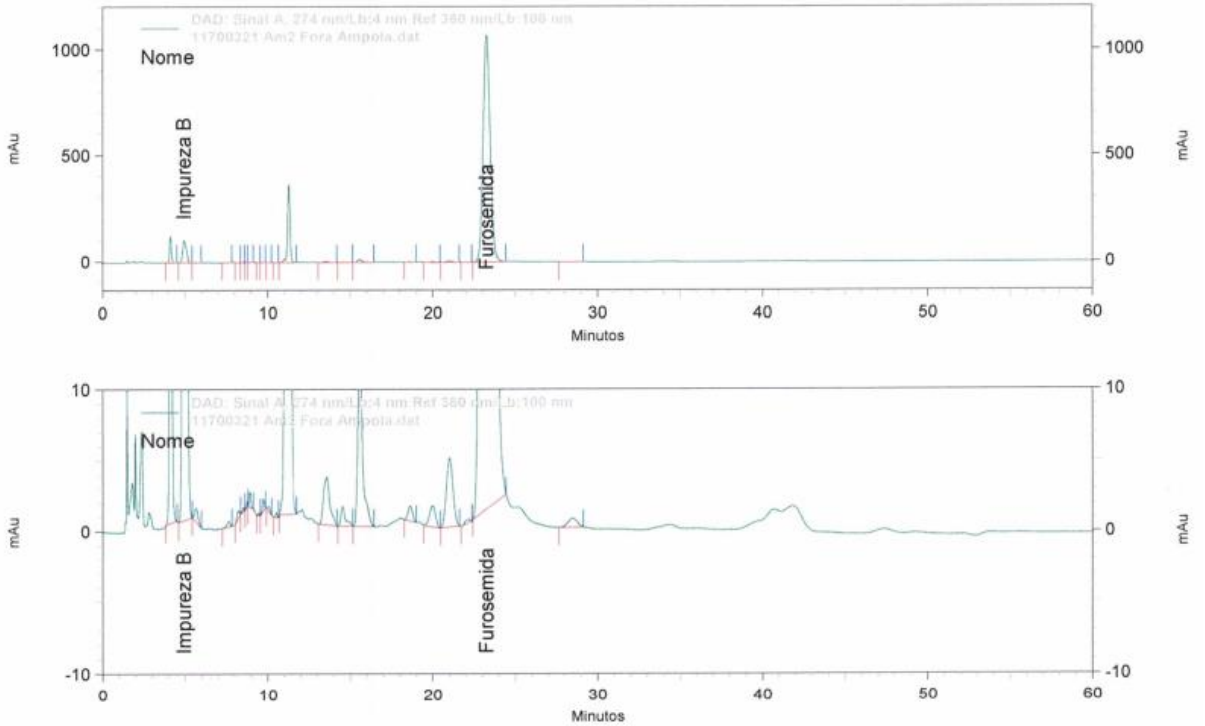
Figura 16 - Cromatograma da Amostra fora da embalagem primária (Amostra 1)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Cromatograma abaixo está no zoom de -10 a 10 mAu.

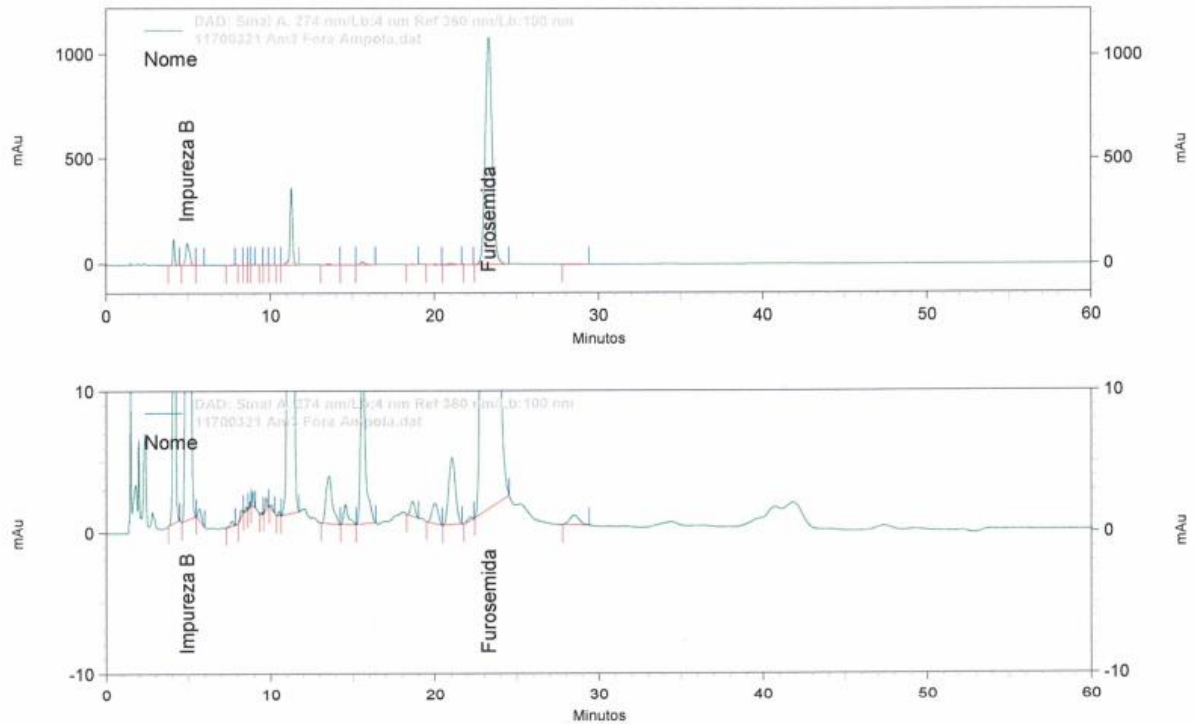
Figura 17 - Cromatograma da Amostra fora da embalagem primária (Amostra 2)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Cromatograma abaixo está no zoom de -10 a 10 mAu.

Figura 18 - Cromatograma da Amostra fora da embalagem primária (Amostra 3)



Fonte: Elaborada pela autora.

Nota: Cromatograma abaixo está no zoom de -10 a 10 mAu.

O produto fora da embalagem primária apresentou inúmeros picos de compostos desconhecidos, o que indica um forte sinal de degradação do produto, indicando sua fotosensibilidade. Os resultados para a Furosemida (ativo) e demais compostos, estão descritos na Tabela 5.

Tabela 5 – Resultados obtidos nas amostras fora da embalagem primária.

(CONTINUA)

Replicata	Pico	Área	Concentração
Réplica 1	Furosemida	66416633	69,62%
	Impureza B	3351928	4,18%
	Impureza desconhecida (TRR±0,17)	1868987	1,526%
	Impureza desconhecida (TRR±0,23)	31672	0,026%
	Impureza desconhecida (TRR±0,32)	12036	0,010%
	Impureza desconhecida (TRR±0,34)	13310	0,011%
	Impureza desconhecida (TRR±0,35)	3982	0,003%

Tabela 5 – Resultados obtidos nas amostras fora da embalagem primária.

(CONTINUAÇÃO)

Réplica 1	Impureza desconhecida (TRR±0,36)	5102	0,004%
	Impureza desconhecida (TRR±0,37)	15638	0,013%
	Impureza desconhecida (TRR±0,39)	2034	0,002%
	Impureza desconhecida (TRR±0,40)	16672	0,014%
	Impureza desconhecida (TRR±0,42)	6336	0,005%
	Impureza desconhecida (TRR±0,43)	5386	0,004%
	Impureza desconhecida (TRR±0,47)	7832966	6,397%
	Impureza desconhecida (TRR±0,57)	192836	0,157%
	Impureza desconhecida (TRR±0,60)	60282	0,049%
	Impureza desconhecida (TRR±0,64)	536998	0,439%
	Impureza desconhecida (TRR±0,77)	44292	0,036%
	Impureza desconhecida (TRR±0,83)	83718	0,068%
	Impureza desconhecida (TRR±0,87)	292976	0,239%
	Impureza desconhecida (TRR±0,92)	11175	0,009%
	Impureza desconhecida (TRR±1,19)	52864	0,043%
Réplica 2	Furosemida	66210877	69,40%
	Impureza B	3334570	4,16%
	Impureza desconhecida (TRR±0,17)	1856053	1,516%
	Impureza desconhecida (TRR±0,23)	29595	0,024%
	Impureza desconhecida (TRR±0,32)	10890	0,009%
	Impureza desconhecida (TRR±0,34)	12984	0,011%
	Impureza desconhecida (TRR±0,35)	4613	0,004%
	Impureza desconhecida (TRR±0,36)	3744	0,003%
	Impureza desconhecida (TRR±0,37)	16862	0,014%
	Impureza desconhecida (TRR±0,39)	2357	0,002%
	Impureza desconhecida (TRR±0,40)	14802	0,012%
	Impureza desconhecida (TRR±0,42)	6612	0,005%

Tabela 5 – Resultados obtidos nas amostras fora da embalagem primária.

(CONTINUAÇÃO)

Réplica 2	Impureza desconhecida (TRR±0,43)	5574	0,005%
	Impureza desconhecida (TRR±0,47)	7821396	6,387%
	Impureza desconhecida (TRR±0,57)	189214	0,155%
	Impureza desconhecida (TRR±0,60)	55872	0,046%
	Impureza desconhecida (TRR±0,64)	535348	0,437%
	Impureza desconhecida (TRR±0,77)	42673	0,035%
	Impureza desconhecida (TRR±0,83)	80309	0,066%
	Impureza desconhecida (TRR±0,87)	285436	0,233%
	Impureza desconhecida (TRR±0,92)	11554	0,009%
	Impureza desconhecida (TRR±1,19)	52751	0,043%
Réplica 3	Furosemida	66427500	69,71%
	Impureza B	3344759	4,17%
	Impureza desconhecida (TRR±0,17)	1860712	1,521%
	Impureza desconhecida (TRR±0,23)	24928	0,020%
	Impureza desconhecida (TRR±0,32)	10591	0,009%
	Impureza desconhecida (TRR±0,34)	11288	0,009%
	Impureza desconhecida (TRR±0,35)	4862	0,004%
	Impureza desconhecida (TRR±0,36)	4110	0,003%
	Impureza desconhecida (TRR±0,37)	15250	0,012%
	Impureza desconhecida (TRR±0,39)	2328	0,002%
	Impureza desconhecida (TRR±0,40)	14936	0,012%
	Impureza desconhecida (TRR±0,42)	6099	0,005%
	Impureza desconhecida (TRR±0,43)	5045	0,004%
	Impureza desconhecida (TRR±0,47)	7841955	6,412%
	Impureza desconhecida (TRR±0,57)	190210	0,156%
Impureza desconhecida (TRR±0,60)	58941	0,048%	

Tabela 5 – Resultados obtidos nas amostras fora da embalagem primária.

(CONCLUSÃO)			
Réplica 3	Impureza desconhecida (TRR±0,64)	528868	0,432%
	Impureza desconhecida (TRR±0,77)	42197	0,035%
	Impureza desconhecida (TRR±0,83)	79160	0,065%
	Impureza desconhecida (TRR±0,87)	280878	0,230%
	Impureza desconhecida (TRR±0,92)	11103	0,009%
	Impureza desconhecida (TRR±1,19)	59565	0,049%

Fonte: Elaborado pela autora

Nota: TRR = Tempo de retenção relativo

Os resultados obtidos e descritos na Tabela 5, indicam a extrema fotodegradação do composto Furosemida. Notou-se a presença de diversas substâncias desconhecidas, que não são obtidas no produto dentro da embalagem primária exposto no mesmo ciclo, identificadas pelos tempos de retenção relativo: 0,32; 0,35; 0,36; 0,37; 0,72; 0,42; 0,43; 0,60; 0,77; 0,83; 0,87; 0,92; 1,19.

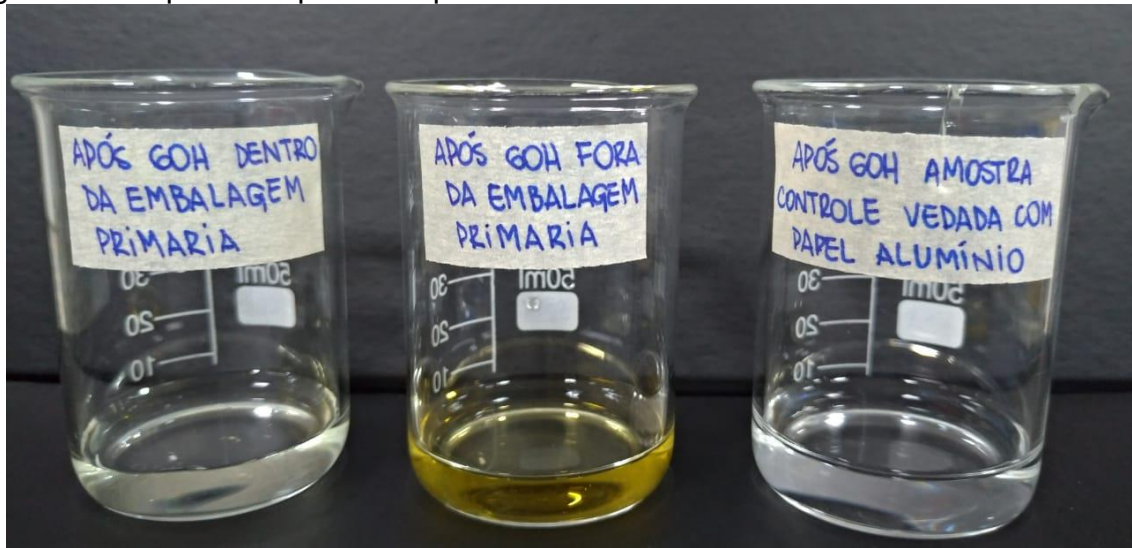
Além do aparecimento destes compostos, percebeu-se uma queda brusca no teor do ativo, que obteve uma média de 69,57%, indicando um valor abaixo do especificado. Notou-se um aumento significativo na Impureza B, que apresentou uma média de 4,17%, apresentando-se agudamente mais elevado em comparação com o produto dentro da embalagem primária, que demonstra uma média de 0,45%.

Algumas impurezas desconhecidas também indicaram elevada degradação do produto devido ao seu percentual acima do especificado, como as de tempo de retenção relativo: 0,17; 0,47; 0,64 e 0,87.

5.7 COR E DESCRIÇÃO DO PRODUTO

A especificação da descrição do produto é que deve apresentar uma solução límpida e incolor. O resultado após o ciclo de fotoestabilidade pode ser observado na Figura 19.

Figura 19 - Aspecto do produto após um ciclo de fotoestabilidade



Fonte: Elaborada pela autora.

É possível perceber uma sutil diferença de cor entre a amostra dentro da embalagem primária e a amostra controle, que foi protegida pelo papel alumínio, apresentando-se levemente mais amarelada do que o controle, o que pode indicar, visualmente, sinais amenos de degradação. Já a amostra fora da embalagem primária, indica total sensibilidade do produto na exposição da luz por sua coloração amarelada.

6 CONCLUSÃO

A furosemida é um medicamento muito importante devido a sua grande aplicabilidade terapêutica, sendo classificado como diurético de alça e também pode ser indicado para o tratamento de insuficiência cardíaca e hipertensão. Devido à escassez de estudos acerca do comportamento deste fármaco, a análise de fotoestabilidade abordada neste Trabalho de Conclusão de Curso apresentou contribuições válidas sobre a importância do material de embalagem durante o armazenamento do produto.

Através deste estudo, foi possível perceber que este diurético possui um alto índice de fotosensibilidade, em que seu contato com a luz reduz seu teor cerca de 20% abaixo da especificação, desenvolvendo também, compostos desconhecidos em alta concentração. Estes eventos indicam que sua exposição na luz agrega ineficácia terapêutica e uma possível toxicidade, devido aos produtos de degradação formados. Embora o produto dentro da sua embalagem primária tenha tido alterações sutis comparado com o Controle, todos os resultados apresentaram-se dentro do especificado, garantindo a eficácia e segurança do produto.

A técnica cromatográfica escolhida mostra-se muito eficiente para o estudo de fotodegradação, permitindo comparar os cromatogramas da furosemida padrão com as amostras em estudo, possibilitando o acompanhamento da degradação da furosemida nas condições estudadas.

REFERÊNCIAS

- (1) ANVISA. AGENCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Farmacopeia Brasileira, volume 1**. 6ª Ed. Brasília, 2019.
- (2) MARTINDALE, W. H. **The extra pharmacopoeia**, 30. ed. London: Pharmaceutical Press, 1991. p. 815-818.
- (3) KOROLKOVAS, A., BURCKHALTER, J. H. **Química Farmacêutica**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 1988.
- (4) ALLEN JR, L.V.; POPOVICH, N.G.; ANSEL, H.C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9.ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 716 p.
- (5) CARARINE, A.D. **Estabilidade de medicamentos: fatores interferentes com destaque em material de embalagem**. Monografia. Curso e Pós-graduação em Tecnologias Industriais Farmacêuticas, Instituto de tecnologia em fármacos - farmanguinhos. Rio de Janeiro, 2016.
- (6) **BRASIL, RDC nº 301, de 21 de agosto de 2019**. Dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Diário oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 22 ago. 2019.
- (7) BARREIRO, ELIEZER J. **Química medicinal: as bases moleculares da ação dos fármacos**. 3. Ed., Porto Alegre: Artmed, 2015. 590 p.
- (8) WHALEM, K.; FINKEL, R.; PAVANELLI, T. A. **Farmacologia ilustrada**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Artmed, 2013. 611 p.
- (9) COSTA, L. S. **Síntese e caracterização de compostos de coordenação do Ácido 4-cloro-2-(2-furilmetilamino)-5-sulfamoil-benzóico com os íons níquel, cobalto e zinco**. 2014. Dissertação (Mestrado em química) – Pós-graduação em química, Universidade federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.
- (10) MICHALOWSKI, C. B. **Desenvolvimento de nanopartículas de núcleo lipídico multiparede complexada com Zn²⁺ contendo captopril e furosemida e avaliação farmacológica em ratos espontaneamente hipertensos**. 2016. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Pós graduação em Ciências farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2016.
- (11) FUROSEMIDE (RX). **Medscape**, 1994-2022. Disponível em: <<https://reference.medscape.com/drug/lasix-furosemide-342423>>. Acesso em: 29/08/2022
- (12) GENNARO, A. R. **Remington - A Ciência e a Prática da Farmácia**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara koogan, 2004. 2228 p.
- (13) **BRASIL, Instrução normativa nº 35, de 21 de agosto de 2019**. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação complementares a Medicamentos Estéreis. Diário oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 22 ago. 2019.

(14) CONTAINERS: glass. In: THE UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. The United States Pharmacopeia. USP 43; NF 38. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, Inc., 2020. Part 660, p. 6881.

(15) ROCHA, T. G; GALENDE, S. B. A importância do controle de qualidade na indústria farmacêutica. **Revista UNINGÁ Review**, Maringá, v. 20, n. 2, p. 97-103, 2014.

(16) GIL, E. S. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. 3. ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

(17) SKOOG, I.; DOUGLAS, A.; CROUCH, S. R. **Princípios de Análise Instrumental**. 6. ed. São Paulo: Bookman, 2009.

(18) **BRASIL, RDC nº 318, de 06 de novembro de 2019**. Estabelece os critérios para a realização de Estudos de Estabilidade de insumos farmacêuticos ativos e medicamentos, exceto biológicos, e dá outras providências. Diário oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 07 nov. 2019.

(19) SILVA, K.E.R; et al. Modelos de Avaliação da Estabilidade de Fármacos e Medicamentos para a Indústria Farmacêutica. **Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada**, Recife, v. 30, n. 2, p. 129-135, 2009.

(20) ROLIM, L. A. **Estudo de degradação do fármaco benznidazol utilizado no combate a doença de chagas por hidrólise, oxidação, fotólise e termodegradação**. 2010. 129 f. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

(21) TONNESEN, H. H. **Photostability of drugs and drug formulations**. 2. ed. Boca Raton: CRC Press, 2004.