

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CONTROLE DE QUALIDADE DO CLORIDRATO DE SIBUTRAMINA
MATÉRIA-PRIMA E CÁPSULAS EM FARMÁCIAS MAGISTRAIS E
AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ESTABILIDADE**

LETÍCIA FLORES DA SILVA MARTINS

PORTO ALEGRE, 2008.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**CONTROLE DE QUALIDADE DO CLORIDRATO DE SIBUTRAMINA
MATÉRIA-PRIMA E CÁPSULAS EM FARMÁCIAS MAGISTRAIS E
AVALIAÇÃO PRELIMINAR DA ESTABILIDADE**

Dissertação apresentada por
Letícia Flores da Silva Martins para
obtenção do GRAU DE MESTRE
em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dr. Ana Maria Bergold

PORTO ALEGRE, 2008.

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 28.03.2008, pela Comissão Examinadora constituída por:

Profa. Dr. Célia Machado Gervásio Chaves
Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS

Prof. Dr. Jarbas Alves Montanha
Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Profa. Dr. Marlise Araújo dos Santos
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul – PUCRS

M386c	Martins, Letícia Flores da Silva Controle de qualidade do cloridrato de sibutramina matéria-prima e cápsulas em farmácias magistrais e avaliação preliminar da estabilidade / Letícia Flores da Silva Martins – Porto Alegre : UFRGS, 2008. – xxv p., 129 p. : il., tab., gráf. Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. 1. Sibutramina. 2. Controle de qualidade de medicamentos. 3. Estabilidade. 4. Cromatografia líquida de alta eficiência. 5. Volumetria. 6. Farmácia magistral. I. Bergold, Ana Maria. II. Título. CDU: 615.2.07
-------	---

Bibliotecária responsável:
Margarida Maria Cordeiro Fonseca Ferreira – CRB10/480

***"Leva tempo para alguém ser bem sucedido
porque o êxito não é mais do que a recompensa natural
pelo tempo gasto em fazer algo direito."***

(Joseph Ross)

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dr. Ana Maria Bergold, pela orientação desde o período de graduação até o momento, amizade e exemplo de profissionalismo.

Ao Laboratório de Química Farmacêutica, onde foi realizada a maior parte deste trabalho, pela disponibilidade de materiais e equipamentos.

Ao Prof. Dr. Pedro Fröhlich e Prof. Dr. Jarbas Montanha, pelos esclarecimentos prestados.

Ao Prof. Dr. César Petzold, do Instituto de Química da UFRGS, pelo auxílio na interpretação das análises térmicas.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF), pelo ensino de qualidade.

À UFRGS e à Faculdade de Farmácia, por contribuírem para a minha formação acadêmica.

À Lúcia, bolsista de iniciação científica, pelo auxílio na realização de algumas técnicas deste trabalho.

À Miriam, da Farmácia Rosa Moschetta, pelo apoio profissional e auxílio na aquisição das matérias-primas utilizadas neste trabalho.

A todos os colegas do Laboratório de Química Farmacêutica, pela amizade e troca de conhecimentos: Sirlei, Carolina, Lisiane, Eliane, Rochele, Maria Cristina, Daniele, Laura, Samuel, Andréa Adams, Marquinho, Luís, Tiago, Jéferson, Leonardo, Dênis, Andréia Pereira, Graziela, Marcela e Natália.

À Profa. Dr. Naira Balzaretti, do Laboratório de Altas Pressões e Materiais Avançados da UFRGS, pela realização dos espectros de infravermelho.

À Profa. Dr. Izabel Riegel, do Instituto de Ciências Exatas e Tecnológicas do Centro Universitário Feevale, pela realização das análises termogravimétricas.

À Simone, do Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTF), pela realização das análises de DSC.

Ao Alex, meu esposo, pelo carinho, companheirismo e incentivo.

Aos meus pais (Celso e Luiza), meus irmãos (Vinícius e Jaqueline), minha família e amigos pelo carinho e constante apoio.

Ao CNPq, pelo financiamento da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

Lista de Figuras	XIII
Lista de Tabelas	XVII
Lista de Quadros	XIX
Lista de Abreviaturas	XXI
Resumo	XXIII
Abstract	XXV
1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS GERAIS	7
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
3.1 OBESIDADE	13
3.2 TERAPÊUTICA PARA A OBESIDADE	15
3.3 CLORIDRATO DE SIBUTRAMINA	18
3.3.1 <u>Aspectos gerais</u>	18
3.3.2 <u>Aspectos físico-químicos</u>	18
3.3.3 <u>Aspectos terapêuticos</u>	20
3.3.3.1 <i>Formulações farmacêuticas</i>	20
3.3.3.2 <i>Indicações e efeitos</i>	20
3.3.3.3 <i>Posologia</i>	21
3.3.3.4 <i>Toxicologia e abuso</i>	22
3.3.3.5 <i>Mecanismo de ação</i>	22
3.3.3.6 <i>Farmacocinética</i>	23

3.3.3.7 <i>Precauções e contra-Indicações</i>	24
3.3.3.8 <i>Interações medicamentosas</i>	25
3.3.3.9 <i>Reações adversas</i>	26
3.3.4 <u>Determinação em fluidos biológicos</u>	27
3.3.5 <u>Controle de qualidade</u>	28
3.3.6 <u>Estabilidade</u>	30
4 MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1 SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA E AMOSTRAS	35
4.2 ANÁLISE QUALITATIVA	36
4.2.1 <u>Descrição</u>	36
4.2.2 <u>Solubilidade</u>	36
4.2.3 <u>Determinação do pH em solução</u>	36
4.2.4 <u>Determinação da faixa de fusão</u>	37
4.2.4.1 <i>Equipamento Mettler Toledo, modelo FP90</i>	37
4.2.4.2 <i>Equipamento de bloco metálico aquecido, segundo Koffler</i>	37
4.2.5 <u>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</u>	38
4.2.6 <u>Termogravimetria (TGA)</u>	39
4.2.7 <u>Reação para cloretos</u>	39
4.2.8 <u>Reação para aminas terciárias</u>	40
4.2.9 <u>Rotação óptica específica</u>	40
4.2.10 <u>Cromatografia em camada delgada (CCD)</u>	41
4.2.11 <u>Espectroscopia na região do infravermelho (IV)</u>	42
4.2.12 <u>Espectroscopia na região do ultravioleta (UV)</u>	43
4.2.13 <u>Aquametria</u>	43
4.2.13.1 <i>Método volumétrico por Karl-Fischer</i>	43
4.2.13.2 <i>Método gravimétrico</i>	44

4.3 ANÁLISE QUANTITATIVA	44
4.3.1 <u>Volumetria em meio não-aquoso (VMNA)</u>	44
4.3.2 <u>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</u>	46
4.3.2.1 <i>Especificidade</i>	47
4.3.2.1.1 Temperatura	47
4.3.2.1.2 Luz ultravioleta.....	48
4.3.2.1.3 Hidrólise ácida.....	48
4.3.2.1.4 Hidrólise alcalina.....	48
4.3.2.1.5 Oxidação.....	49
4.3.2.1.6 Solução simulada de excipientes.....	49
4.3.2.2 <i>Linearidade</i>	49
4.3.2.3 <i>Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)</i>	50
4.3.2.4 <i>Precisão</i>	51
4.3.2.5 <i>Exatidão</i>	52
4.3.2.2 <i>Robustez</i>	54
4.3.3. <u>Comparação estatística entre os métodos de doseamento</u>	55
4.4 ESTUDO PRELIMINAR DA ESTABILIDADE	55
4.4.1 <u>Exposição à temperatura elevada</u>	55
4.4.2 <u>Exposição à radiação ultravioleta</u>	55
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
5.1 SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA E AMOSTRAS.....	59
5.2 ANÁLISE QUALITATIVA	60
5.2.1 <u>Descrição</u>	60
5.2.2 <u>Solubilidade</u>	61
5.2.3 <u>Determinação do pH em solução</u>	63
5.2.4 <u>Determinação da faixa de fusão</u>	64

5.2.5 <u>Calorimetria exploratória diferencial (DSC)</u>	66
5.2.6 <u>Termogravimetria (TGA)</u>	70
5.2.7 <u>Reação para cloretos</u>	73
5.2.8 <u>Reação para aminas terciárias</u>	74
5.2.9 <u>Rotação óptica específica</u>	75
5.2.10 <u>Cromatografia em camada delgada (CCD)</u>	75
5.2.11 <u>Espectroscopia na região do infravermelho (IV)</u>	78
5.2.12 <u>Espectroscopia na região do ultravioleta (UV)</u>	79
5.2.13 <u>Aquametria</u>	81
5.2.13.1 <i>Método volumétrico por Karl-Fischer</i>	81
5.2.13.2 <i>Método gravimétrico</i>	83
5.3 ANÁLISE QUANTITATIVA	85
5.3.1 <u>Volumetria em meio não-aquoso (VMNA)</u>	85
5.3.2 <u>Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</u>	88
5.3.2.1 <i>Especificidade</i>	91
5.3.2.1.1 <i>Temperatura</i>	91
5.3.2.1.2 <i>Luz ultravioleta</i>	92
5.3.2.1.4 <i>Hidrólise ácida</i>	93
5.3.2.1.5 <i>Hidrólise alcalina</i>	94
5.3.2.1.6 <i>Oxidação</i>	95
5.3.2.1.7 <i>Solução simulada de excipientes</i>	96
5.3.2.2 <i>Linearidade</i>	97
5.3.2.3 <i>Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)</i>	98
5.3.2.4 <i>Precisão</i>	98
5.3.2.5 <i>Exatidão</i>	99
5.3.2.2 <i>Robustez</i>	100
5.3.3. <u>Comparação estatística entre os métodos de doseamento</u>	101

5.4 ESTUDO PRELIMINAR DA ESTABILIDADE	102
5.4.1 <u>Exposição à temperatura elevada</u>	103
5.4.2 <u>Exposição à radiação ultravioleta</u>	105
6. CONCLUSÕES	107
7. REFERÊNCIAS	111
ANEXO	125

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do cloridrato de sibutramina monoidratado	19
Figura 2. Estruturas químicas de: metabólito 1 (I) e metabólito 2 (II)	24
Figura 3. Termogramas obtidos para: SQR (preto) e SIB1 (vermelho), de acordo com as condições analíticas descritas para a técnica de DSC no Quadro 7 (p. 38); SIB1 (azul) com velocidade de aquecimento 40 °C/min e demais condições mantidas	67
Figura 4. Termogramas obtidos para: SIB2 (preto) e SIB3 (vermelho), de acordo com as condições analíticas descritas para a técnica de DSC no Quadro 7 (p. 38) ...	68
Figura 5. Curva termogravimétrica da SQR obtida nas condições descritas no item 4.2.6 (p. 39) TGA (preto) e DTG (vermelho)	70
Figura 6. Curva termogravimétrica da SIB1 obtida nas condições descritas no item 4.2.6 (p. 39) TGA (preto) e DTG (vermelho)	71
Figura 7. Curva termogravimétrica da SIB2 obtida nas condições descritas no item 4.2.6 (p. 39) TGA (preto) e DTG (vermelho)	71
Figura 8. Curva termogravimétrica da SIB3 obtida nas condições descritas no item 4.2.6 (p. 39) TGA (preto) e DTG (vermelho)	72
Figura 9. Estruturas químicas correspondentes a: etilamina (A), cloridrato de fluoxetina (B) e trietilamina (C)	74
Figura 10. Estrutura química do cloridrato de diltiazem	76
Figura 11. Placa cromatográfica obtida por CCD para a substância de referência cloridrato de diltiazem (DIL), SQR, amostra SIB1 e amostra SIB1 submetida à 105 °C por 5 horas. Fase estacionária: cromatoplasca de gel de sílica GF 254 Merck. Fase móvel: etanol P.A. Revelação: lâmpada UV 254 nm (A) e vapores de iodo (B)..	77
Figura 12. Espectros de infravermelho obtidos para SQR (preto), SIB1 (vermelho) ..	78
Figura 13. Espectros obtidos na região do ultravioleta para a SQR do cloridrato de sibutramina em solução, diluído nos solventes: ácido clorídrico 0,1 M (preto), metanol (azul) e etanol (vermelho)	80

Figura 14. Espectros obtidos na região do ultravioleta para SQR e SIB1, em solução etanólica	81
Figura 15. Cromatogramas obtidos para SQR (preto), SIB1 (vermelho), CAP (azul) 60 µg/mL e excipientes de CAP, diluídos na fase móvel, de acordo com o método desenvolvido por CLAE. Condições de análise: coluna Macherey-Nagel Nucleosil® C ₈ ec, 150 x 4,0 mm, partículas 5 µm, poros 100 ?; fase móvel: ACN e água (75:25 V/V), 0,3% trietilamina, pH 7,0 (H ₃ PO ₄); λ = 225 nm; fluxo 1,2 mL/min	90
Figura 16. Cromatograma da solução de SQR (preto) e CAP (vermelho) 60 µg/mL, diluídas em fase móvel, após serem submetidas à temperatura de 80 °C, durante 24 horas, conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10 (p. 47)	92
Figura 17. Cromatograma da SQR 60 µg/mL, diluída em fase móvel, sem incidência de radiação (preto) e após ser submetido à luz ultravioleta 254 nm durante 24 horas (vermelho), conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10 (p. 47)	93
Figura 18. Cromatogramas obtidos após hidrólise ácida durante duas horas para: cloridrato de sibutramina em soluções 60 µg/mL, diluídas em fase móvel, de SQR (preto) e de CAP (vermelho); branco (azul). Análise conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10	94
Figura 19. Cromatogramas obtidos após hidrólise alcalina durante duas horas para: cloridrato de sibutramina em soluções 60 µg/mL, diluídas em fase móvel, de SQR (A) e de CAP (B); branco (C). Análise conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10	95
Figura 20. Cromatograma da solução de cloridrato de sibutramina monoidratado 60 µg/mL, diluída em fase móvel, após oxidação com peróxido de hidrogênio 10% durante duas horas. Análise de SQR (preto), CAP (vermelho) e branco (azul), conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10	96
Figura 21. Representação gráfica da curva padrão obtida para o cloridrato de sibutramina monoidratado por CLAE, conforme método descrito no Quadro 10 (p. 47)	97
Figura 22. Cromatogramas da solução de cloridrato de sibutramina monoidratado (SQR) 60 µg/mL, diluída em fase móvel, antes (preto) e após ser submetida à temperatura de 60 °C, durante um (vermelho), dois (azul), quatro (verde) e dez (violeta) dias, conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10	104
Figura 23. Espectro de UV do pico com tR de três minutos, obtido após exposição da solução de SQR 60 µg/mL, diluída em fase móvel à radiação UV 254 nm por dez dias	105

Figura 24. Cromatogramas da solução de cloridrato de sibutramina monoidratado (SQR) 60 µg/mL, diluída em fase móvel após ser submetida à radiação UV 254 nm, durante um (A), dois (B), três (C) e quatro (D) dias, conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10 106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Esquema de diluições utilizado nas curvas padrão, a partir de uma solução estoque contendo 250 µg/mL da SQR	50
Tabela 2. Esquema para o preparo das soluções para avaliação da recuperação do cloridrato de sibutramina na sua determinação em cápsulas	53
Tabela 3. Média da determinação do pH de soluções aquosas a 2% da SQR e amostra SIB1	63
Tabela 4. Comparação dos valores das faixas de fusão obtidas para SQR e SIB1, pelo fornecedor e pelos equipamentos segundo Koffler, Mettler Toledo e DSC	64
Tabela 5. Dados obtidos pela técnica de DSC para SQR e amostras SIB1, SIB2 e SIB3.....	69
Tabela 6. Dados obtidos pela técnica de TGA para SQR e amostras SIB1, SIB2 e SIB3	72
Tabela 7. Média de três determinações do poder rotatório específico para soluções etanólicas a 1% de SQR e amostra SIB1	75
Tabela 8. Resultados obtidos para a determinação da aquametria pelo método de Karl-Fischer, para SQR e SIB1, em três dias diferentes	82
Tabela 9. Resultados obtidos para a determinação da aquametria pelo método gravimétrico, para SQR e SIB1, sob diferentes condições	83
Tabela 10. Comparação dos teores de SIB1 obtidos através de diferentes métodos de VMNA, calculados em relação à substância seca	88
Tabela 11. Avaliação dos parâmetros cromatográficos, para o método desenvolvido por CLAE, para o doseamento do cloridrato de sibutramina monoidratado	91
Tabela 12. Resultados obtidos para a repetibilidade e precisão intermediária, referentes ao método desenvolvido por CLAE para o doseamento do cloridrato de sibutramina na forma de matéria-prima (amostra SIB1)	99
Tabela 13. Resultados obtidos para a repetibilidade e precisão intermediária, referentes ao método desenvolvido por CLAE para o doseamento do cloridrato de sibutramina na forma de produto acabado (amostra CAP)	99

Tabela 14. Resultados da recuperação do cloridrato de sibutramina em cápsulas	100
Tabela 15. Parâmetros cromatográficos e teor da amostra SIB1 para variações do método desenvolvido por CLAE para o cloridrato de sibutramina	101
Tabela 16. Comparação dos resultados dos teores obtidos por CLAE e pelos métodos 4 e 5 por VMNA	102
Tabela 17. Teores de SQR após ser submetida à temperatura de 60 °C, em diferentes tempos	103
Tabela 18. Teores de SQR 60 µg/mL, diluída na fase móvel, após ser submetida à radiação UV 254 nm, em diferentes tempos	106
Tabela 19. Análise de variância (ANOVA) comparando os resultados obtidos pelos seis métodos por VMNA	ANEXO
Tabela 20. Áreas absolutas dos picos cromatográficos obtidos para cada concentração das três curvas padrão obtidas por CLAE	ANEXO
Tabela 21. Análise de variância (ANOVA) para três curvas padrão realizadas para o método por CLAE	ANEXO
Tabela 22. Análise de variância (ANOVA) comparando os resultados obtidos por CLAE e pelos métodos 4 e 5 por VMNA	ANEXO

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Classificação da obesidade descrita pela WHO (2006 b), relacionando o valor do IMC em adultos de ambos os sexos com o risco de co-morbidade	14
Quadro 2. Classificação dos principais fármacos para perda de peso, de acordo com o respectivo mecanismo de ação (FUCHS <i>et al</i> , 2004)	16
Quadro 3. Dados referentes ao registro e molécula das formas de apresentação da sibutramina	19
Quadro 4. Comparação das condições gerais empregadas para determinação de sibutramina e seus metabólitos em plasma humano, por CLAE	28
Quadro 5. Comparação das condições gerais empregadas para determinação de sibutramina e seus enantiômeros em matéria-prima, através de CLAE	30
Quadro 6. Características das amostras de matérias-primas de cloridrato de sibutramina monoidratado utilizadas no presente trabalho	35
Quadro 7. Especificações dos parâmetros experimentais utilizados na calorimetria exploratória diferencial às quais as amostras e SQR foram submetidas	38
Quadro 8. Condições cromatográficas empregadas para análise por CCD de SQR, SIB1 e CAP	41
Quadro 9. Descrição quali e quantitativa das soluções e reagentes empregados em cada método testado por VMNA para o doseamento do cloridrato de sibutramina monoidratado	45
Quadro 10. Condições cromatográficas utilizadas para a validação do método por CLAE para a análise do cloridrato de sibutramina monoidratado	47
Quadro 11. Modificações das condições cromatográficas para a avaliação da robustez do método por CLAE	54
Quadro 12. Avaliação da solubilidade para SQR e SIB1, conforme a classificação descrita na F. Bras. IV (1988)	62
Quadro 13. Atribuições às principais bandas do espectro de infravermelho para o cloridrato de sibutramina monoidratado	79

Quadro 14. Recomendação da quantidade de amostra a ser utilizada para análise no equipamento para determinação de água (método de Karl-Fischer), de acordo com a especificação de umidade descrita no manual do equipamento DL 37 Mettler Toledo.

ANEXO

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN: acetonitrila

CAP: cápsulas

CAS: Chemical Abstracts Service

DAD: detector de arranjo de fotodiodos

CID: código internacional de doenças

DSC: calorimetria exploratória diferencial

ESI: ionização por eletrospray

IMC: índice de massa corporal

IV: infravermelho

P.A.: reagente grau analítico

Rf: fator de retenção

Rx: R_f amostra/ R_f referência

SIB: cloridrato de sibutramina monoidratado

SQR: substância química de referência

TEA: trietilamina

TR: tempo de retenção

TGA: termogravimetria

UV: ultravioleta

VMNA: volumetria em meio não-aquoso

RESUMO

Controle de qualidade do cloridrato de sibutramina matéria-prima e cápsulas em farmácias magistrais e avaliação preliminar da estabilidade

O cloridrato de sibutramina monoidratado está entre os anorexígenos mais prescritos e adquiridos em farmácias magistrais. No entanto, esse fármaco não possui metodologia oficial para o seu controle de qualidade, nem estudos de estabilidade. Considerando tais aspectos, o presente trabalho objetiva o desenvolvimento e a validação de métodos para o controle de qualidade do cloridrato de sibutramina em farmácias magistrais, na forma de matéria-prima e cápsulas, comparando-os com técnicas instrumentais, bem como realizar o estudo preliminar de sua estabilidade. As amostras de cloridrato de sibutramina foram caracterizadas e identificadas pelos métodos qualitativos: características organolépticas, solubilidade, pH, faixa de fusão, calorimetria exploratória diferencial, termogravimetria, reações de identificação, rotação óptica específica, cromatografia em camada delgada, espectrofotometria na região do infravermelho, espectrofotometria na região do ultravioleta e aquametria. Desenvolveram-se dois métodos para a quantificação do cloridrato de sibutramina: volumetria em meio não-aquoso e cromatografia líquida de alta eficiência. Testaram-se seis métodos por volumetria em meio não-aquoso para matéria-prima, sendo três deles com utilização de uma mistura de ácido acético glacial e acetato mercúrico e os demais com uma mistura de ácido acético glacial e anidrido acético. Os resultados obtidos pelos seis métodos de volumetria em meio não-aquoso foram comparados estatisticamente através da análise de variância e não demonstraram diferença significativa. Sugeriram-se dois métodos de volumetria em meio não-aquoso com uso da mistura de ácido acético glacial e anidrido acético, mais seguros que com ácido acético glacial e acetato mercúrico, para serem utilizados em farmácias magistrais. Não houve diferença significativa entre os resultados obtidos por esses dois métodos quando comparados com o método por cromatografia líquida de alta eficiência previamente validado. O último método também foi validado para a determinação de cloridrato de sibutramina em cápsulas. O estudo preliminar de estabilidade, avaliado por cromatografia líquida de alta eficiência, apresentou sinais de formação de produtos de degradação quando o cloridrato de sibutramina foi exposto a condições de estresse à temperatura de 60 °C e radiação UV 254 nm, durante 10 dias.

Palavras-chave: controle de qualidade; farmácia magistral; sibutramina; volumetria em meio não-aquoso; cromatografia líquida de alta eficiência; estabilidade.

ABSTRACT

Quality control of sibutramine hydrochloride bulk and capsules in compounding pharmacies and preliminary stability evaluation

Sibutramine hydrochloride (SIB) is one of the anorexigens with more prescriptions, mainly acquired in compounding pharmacies. However, this drug do not have an official methodology to quality control, neither stability studies. Then, the purpose of this work are the development and the validation of methods to sibutramine hydrochloride quality control in compounding pharmacies, in bulk and in capsules, by comparison with instrumental techniques. Additionally, the preliminary stability study was performed. The sibutramine hydrochloride samples were characterized and identified by qualitative methods: organoleptic characters, solubility, pH, melting range, differential scanning calorimetry, termogravimetry, identification reactions, specific rotation, thin layer chromatography, infrared spectrofotometry, ultraviolet spectrofotometry and water determination. Two methods were developed to sibutramine hydrochloride quantification: non-aqueous titrimetry and high-pressure liquid chromatography. Six methods were tried by non-aqueous titrimetry for bulk assay determination, three of them with the use of a glacial acetic acid and mercuric acetate mixture and the others with a glacial acetic acid and acetic anhydrid mixture. The obtained results by the six non-aqueous titrimetry methods were statistically compared by analisis of variance and did not show significative difference. Two methods were suggested with the glacial acetic acid and acetic anhydrid mixture, which is safer than glacial acetic acid and mercuric acetate mixture, to be used in compounding pharmacies. There was no significative difference beetwen the obtained results when non-aqueous titrimetry methods were compared with the previously validated HPLC method. HPLC was also validated for sibutramine hydrochloride assay in capsules. The preliminary stability study, evaluated by HPLC, showed degradation products signs when the drug was exposed to the stress conditions: 60 °C temperature and UVB radiation, for 10 days.

Key-words: quality control; compounding pharmacy; sibutramine; non-aqueous titrimetry; high-pressure liquid chromatography; stability.

1. INTRODUÇÃO

O estilo contemporâneo de vida, associado ao sedentarismo e consumo de alimentos calóricos, tem contribuído para o elevado índice mundial de obesidade e sobrepeso. Dados obtidos em 2005 mostraram que a obesidade atinge cerca de 400 milhões de adultos no mundo e 1,6 bilhões apresentam sobrepeso (RANG *et al*, 2007; WHO, 2006 a).

Nos Estados Unidos, uma pesquisa concluiu que cerca de 33% da população adulta é obesa. Em muitos países da Europa, esse índice corresponde de 15 a 25% dos adultos (IOTF, 2008). De acordo com dados obtidos em 2002 e 2003, extrapolou-se que a obesidade ocorre em 8,9% dos homens e 13,1% das mulheres no Brasil (IBGE, 2003).

Muitos tratamentos farmacológicos são recomendados para a redução de peso. Os principais são os anorexígenos, também conhecidos como supressores do apetite. Essa classe de medicamentos apresenta efeitos colaterais importantes sob o ponto de vista cardiovascular e em nível de sistema nervoso central (SNC) (KOROLKOVAS *et al*, 2007; USP DI, 2005). Assim, sua prescrição deve ser criteriosa, evitando o uso indevido e indiscriminado.

Contudo, no Brasil há um consumo exagerado de anorexígenos em relação aos demais países. De acordo com o relatório anual da *International Narcotics Control Board*, a população brasileira é a maior consumidora mundial *per capita* dos anorexígenos anfetamínicos com a finalidade de emagrecimento, ou seja, 9,1 doses diárias para cada 1.000 habitantes (INCB, 2007).

Além disso, são comuns as prescrições com doses maiores que as usuais, em associações perigosas e para pacientes portadores de patologias que não justificam o uso desses medicamentos. Preocupada com tal problema de saúde pública em nosso país, a ANVISA instituiu uma regulamentação mais restritiva para os anorexígenos. Essa inclui novas regras que devem ser observadas por profissionais prescritores, farmacêuticos e farmácias (BRASIL, 2007 a).

Presume-se que a maior parte dos anorexígenos consumidos no Brasil, como anfepramona, femproporex e mazindol, sejam provenientes de farmácias magistrais

(ABESO, 2006; CARNEIRO *et al*, 2005). Outro medicamento dessa classe, cuja aquisição é usual em tais empresas, é a sibutramina. O último fato é justificado, principalmente, porque sua especialidade farmacêutica é onerosa.

As farmácias magistrais representam um segmento bastante difundido na área da saúde. O número desses estabelecimentos cresce rapidamente no Brasil. Em 2004, foi estimado um total de 5.356 farmácias magistrais ativas no país (ANFARMAG, 2008; SOUZA, 2005), sendo 947 delas no Rio Grande do Sul¹.

Entretanto, o setor magistral tem sido alvo de polêmica, principalmente após os problemas ocorridos com as substâncias de baixo índice terapêutico (CFF, 2003). A divulgação de tais fatos na mídia provocou desconfiança aos consumidores. As farmácias, responsáveis pelo acesso aos medicamentos de mais de 55 milhões de brasileiros (TOKARSKI, 2002), precisam demonstrar a sua credibilidade.

Sendo o Brasil um país com várias carências na área da saúde, inúmeros tratamentos são garantidos aos pacientes pelas farmácias magistrais. Essas oferecem medicamentos personalizados em doses nem sempre disponíveis comercialmente (LEAL *et al*, 2007). O setor magistral, apresentando esse papel relevante na política sanitária, deve ser qualificado por educação continuada dos colaboradores, respaldo científico das formulações aviadas e aprimoramento de seus próprios laboratórios de controle de qualidade.

Geraram-se, assim, muitas discussões técnicas entre as instituições do sistema de saúde brasileiro para a publicação de normas técnicas destinadas às farmácias magistrais. Dessa maneira, a ANVISA promoveu uma Consulta Pública (BRASIL, 2005) com alteração de normas legais pré-existentes (BRASIL, 2000; BRASIL, 2003 a), as quais foram revogadas e levaram ao advento da Resolução RDC nº 214 (BRASIL, 2006 b). Posteriormente, a última resolução foi substituída, com alterações, para a atual RDC nº 67 (BRASIL, 2007 b).

1. Comunicação pessoal: CRF-RS. Conselho Regional de Farmácia do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 07 de junho de 2006.

Uma das principais exigências da Resolução atual está relacionada com o controle de qualidade de fármacos, produtos intermediários e medicamentos manipulados nas farmácias magistrais (BRASIL, 2007 b). Essa área de conhecimento é de extrema importância para a garantia da qualidade dos medicamentos dispensados aos usuários. Sendo assim, tais estabelecimentos necessitam de metodologia validada e simples, para a realização de análises de rotina no seu próprio laboratório de controle de qualidade.

Entretanto, as monografias de muitos fármacos utilizados em farmácias não constam em farmacopéias. O anorexígeno cloridrado de sibutramina, por exemplo, fármaco cuja patente foi recém extinta (ABBOTT, 2006 a), não possui a descrição de uma metodologia analítica com prática viável em farmácias magistrais. Sua estabilidade química também não foi determinada.

Frente às situações expostas, julgaram-se necessários o desenvolvimento e a validação de metodologia para análise desse fármaco e de sua forma farmacêutica, bem como um estudo preliminar de sua estabilidade. Esses aspectos foram determinados e avaliados no presente trabalho.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Desenvolver e/ou validar métodos analíticos para o cloridrato de sibutramina monoidratado matéria-prima e na forma farmacêutica cápsulas, os quais sejam adequados para a realização do controle de qualidade em farmácias magistrais e/ou por técnicas instrumentais. Adicionalmente, realizar os estudos preliminares de estabilidade.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Desenvolver análises qualitativas, bem como avaliar a SQR e as amostras de cloridrato de sibutramina monoidratado matéria-prima e cápsulas, quando cabível, por meio de:

- descrição;
- testes de solubilidade;
- pH de solução aquosa;
- faixa de fusão, por diferentes métodos;
- calorimetria exploratória diferencial (DSC);
- análise termogravimétrica (TGA);
- reações de identificação de grupos químicos;
- rotação óptica específica;
- cromatografia em camada delgada (CCD);
- espectrofotometria na região do infravermelho (IV);
- espectrofotometria na região do ultravioleta (UV);
- teor de água.

b) Desenvolver e validar metodologia analítica para a quantificação do fármaco puro e em cápsulas, através de cromatografia líquida de alta eficiência;

c) Desenvolver e validar metodologia analítica para quantificação do fármaco puro, por volumetria em meio não-aquoso com uso de química limpa e realizável em farmácias magistrais;

d) Proceder à comparação estatística entre os métodos de doseamento propostos para a matéria-prima;

e) Realizar estudos preliminares quanto à estabilidade do cloridrato de sibutramina monoidratado.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 OBESIDADE

Nos últimos anos, a prevalência da obesidade tem aumentado substancialmente em todo o mundo. A doença é uma das graves conseqüências oriundas da modernização e industrialização crescentes. O problema também é estendido a crianças e adolescentes, o que representa um sério problema de saúde em nível mundial (WHO, 2006 a).

Dados epidemiológicos demonstram que é crescente o número de mortes relacionadas à obesidade (WHO, 2006 a). Na obesidade pronunciada, por exemplo, em que o indivíduo apresenta um índice de massa corporal (IMC) superior a 40 kg/m², a mortalidade é aumentada em 12 vezes, considerando um grupo de faixa etária de 25 a 35 anos (RANG *et al*, 2007).

Justificativas para esses fatos são: o consumo predominante de alimentos processados, com elevada densidade energética, alto teor de lipídeos e carboidratos, além da reduzida quantidade de atividade física (WHO, 2006 a). Dados obtidos nos Estados Unidos demonstraram que nos últimos 100 anos o consumo de gorduras foi aumentado em 67% e o de açúcar em 64%. Enquanto o consumo de verduras e legumes reduziu 26% e o de fibras, 18% (COUTINHO, 2007).

A obesidade é uma condição de acúmulo anormal ou excessivo de gordura no tecido adiposo, numa extensão em que a saúde do paciente pode ser prejudicada. Essa definição foi oficialmente adotada pela Organização Mundial de Saúde (WHO, 2006 a). Um dos principais diagnósticos para a classificação do grau da enfermidade relacionada ao aumento do peso é embasado no cálculo do IMC. Esse valor correspondente à divisão da massa corporal (em quilogramas) do indivíduo pelo quadrado de sua altura (em metros).

Uma classificação da obesidade relacionando o valor do IMC ao risco de comorbidade é apresentada no Quadro 1. No entanto, a avaliação da obesidade em crianças de 5 a 14 anos não é padronizada (WHO, 2006 a).

Quadro 1. Classificação da obesidade descrita pela WHO (2006 b), relacionando o valor do IMC em adultos de ambos os sexos com o risco de co-morbidade.

Classificação	IMC	Risco de co-morbidade
Normal	18,50 - 24,99	Normal
Sobrepeso	25,00 - 29,99	Aumentado
Obeso Classe I	30,00 - 34,99	Moderado
Obeso Classe II	35,00 - 39,99	Grave
Obeso Classe III	≥ 40,00	Muito grave

A obesidade é decorrente de um desequilíbrio na regulação homeostática do balanço energético, uma relação controlada pelo hipotálamo, entre o consumo de energia e ingestão de calorias. Assim, pode ter origem endógena ou exógena. O balanço energético corporal pode ser alterado através de hábitos alimentares, exercícios físicos, constituição genética, além de aspectos sociais, culturais e psicológicos do indivíduo (GOODMANN *et al*, 2006; RANG *et al*, 2007).

Vários estudos propuseram o mecanismo de regulação do balanço energético e dos depósitos de gordura. Em 1994, foi clonado o gene *ob*, cuja mutação provoca a obesidade. A leptina, conteúdo protéico desse gene, foi associada à redução de peso. A insulina e peptídeos hipotalâmicos também exercem um papel importante na regulação do peso corporal (RANG *et al*, 2007).

Há uma miscelânea de riscos inerentes à obesidade. Essa enfermidade crônica pode trazer como conseqüências o aparecimento ou o agravamento de co-morbidades, tais como: diabetes melito não insulino-dependente, hipertensão, hipertrigliceridemia, cardiopatia isquêmica, câncer de cólon, de mama, de próstata, de vesícula biliar, de ovário e de útero. Também podem ocorrer distúrbios como osteoartrite, doença vesicular, hiperuricemia, hipogonadismo masculino e síndrome plurimetabólica (FUCHS *et al*, 2004; GOODMANN *et al*, 2006; RANG *et al*, 2007; WHO, 2006 a).

3.2 TERAPÊUTICA PARA A OBESIDADE

Embora alterações na dieta e no estilo de vida constituam as principais terapias recomendadas para a obesidade, a perda de peso é, freqüentemente, baixa e em longo prazo é desestimulante ao paciente. Essa terapia apresenta demora no surgimento de efeitos, além de exigir um elevado grau de comprometimento do indivíduo obeso (BLANCK *et al*, 2004; CHAPUT e TREMBLAY, 2006).

Considerando os riscos inerentes à obesidade, há a nítida necessidade em tratar o paciente, não apenas com a finalidade estética, mas também, e principalmente, devido aos danos causados à saúde. A terapia de escolha varia conforme a classificação da patologia no paciente, sendo priorizada para as situações de sobrepeso apenas exercícios físicos e esquemas dietéticos, ambos orientados por profissional competente. Tratamentos para casos mais graves, de indivíduos classificados como obesos, requerem uma interferência farmacológica e/ou cirúrgica e, certamente, devem ser associados à dieta e atividade física (RANG *et al*, 2007; USP DI, 2005).

Os principais fármacos disponíveis para o tratamento da obesidade são divididos em dois grupos: estimulantes do SNC, os quais atuam no mecanismo central das catecolaminas, e fármacos que interferem na via serotoninérgica. Estimulantes, como as anfetaminas, são pouco recomendados para tratamentos em longo prazo devido aos seus efeitos potenciais aditivos. Outros estimulantes que têm sido amplamente utilizados incluem: cloridrato de anfepramona, cloridrato de femproporex e mazindol (PARFITT, 1999).

Uma classificação dos medicamentos que atuam no SNC e por outros mecanismos é apresentada no Quadro 2.

Entre essas classes, destacam-se os anorexígenos, também chamados de “supressores de apetite” ou “inibidores de apetite”. Seu uso é indicado apenas como adjuvante no tratamento da obesidade, devido aos efeitos colaterais característicos (KOROLKOVAS *et al*, 2007).

Quadro 2. Classificação dos principais fármacos para perda de peso, de acordo com o respectivo mecanismo de ação (FUCHS *et al*, 2004).

Mecanismo de Ação	Fármacos
Catecolaminérgico	cloridrato de anfepramona (dietilpropiona) cloridrato de femproporex mazindol
Catecolaminérgico e serotoninérgico	cloridrato de sibutramina
Hormônios e peptídeos	leptina colecistoquimina agentes relacionados ao neuropeptídeo Y agonistas β_3 -adrenérgicos
Inibidor da absorção de gordura	orlistate (tetraidrolistatina) quitosana
Termogênico	aminofilina cafeína cloridrato de efedrina teobromina

Sendo aminas simpatomiméticas, os efeitos da maioria dos anorexígenos são semelhantes às anfetaminas, incluindo estimulação do SNC e elevação da pressão arterial. Muitos desses fármacos possuem um efeito principal sobre o centro de controle do apetite no hipotálamo. A redução da ingestão de alimentos ocorre por alteração no controle químico da transmissão do impulso nervoso (KOROLKOVAS *et al*, 2007).

Muitos dos medicamentos anorexígenos são comercializados em todo o mundo. Alguns deles, porém, são proibidos em todos ou em alguns países. O femproporex, por exemplo, não é aprovado para uso nos Estados Unidos e em parte da Europa devido à ausência de estudos (FDA, 2006).

Entre a classe de anorexígenos, a sibutramina e o orlistate são os medicamentos com maior número de estudos (CHAPUT e TREMBLAY, 2006). No

entanto, para tratamentos a longo prazo são necessárias mais pesquisas (LI *et al*, 2005; RANG *et al*, 2007).

Existem também muitos produtos para o tratamento da obesidade, não reconhecidos como fármacos. Entre esses, encontram-se misturas de produtos naturais ou suplementos alimentares, com propostas de efeitos diferenciados e reações adversas menos graves. Com esses apelos, freqüentemente, aqueles produtos são erroneamente divulgados pelos fabricantes de forma indutora à automedicação (ALLISON *et al*, 2001; ANFARMAG, 2006).

Muitas vezes, as formulações prescritas para o emagrecimento são excêntricas e incluem associações de fármacos e outros produtos dotados de finalidades terapêuticas diversas. São comuns as formulações compostas de diuréticos, laxantes, digitálicos, antidepressivos, calmantes, estimulantes do hormônio da tireóide e redutores do apetite (KOROLKOVAS *et al*, 2007). Para a maioria dos pacientes, não é justificado o uso dessas terapias alternativas simultaneamente. A perda de peso proporcionada, nesses casos, é consideravelmente rápida e não saudável. Essas associações, com finalidade exclusiva de tratamento da obesidade, são vedadas pela ANVISA. Às farmácias, cabe o papel de rejeitar as receitas cujo padrão legal não é respeitado, contribuindo assim para o uso racional de medicamentos no tratamento da obesidade (BRASIL, 2007 a).

Alguns fármacos já aprovados pelo FDA para outras patologias estão sendo avaliados para a redução de peso, tais como o rimonabanto e a zonizamida (FINER, 2005; LI *et al*, 2005). Entretanto, existem poucas pesquisas para a predição de sua eficácia no tratamento da obesidade. Outras substâncias também estão sendo desenvolvidas, como análogos do antidepressivo fluoxetina ou outros que tenham a capacidade de reduzir a massa corporal sem restrição dietética, com especificidade e com poucos efeitos colaterais (BHANDARI *et al*, 2006; CHAPUT e TREMBLAY, 2006).

3.3 CLORIDRATO DE SIBUTRAMINA

3.3.1 Aspectos gerais

No início da década de 80, o cloridrato de sibutramina monoidratado foi sintetizado pela indústria Abbott como inibidor da recaptação de serotonina e de norepinefrina. Embora a molécula não tenha apresentado eficácia como antidepressivo, proposta para a qual foi inicialmente desenvolvida, demonstrou atividade para a redução do apetite (CHAPUT e TREMBLAY, 2006).

O primeiro depósito de patente para o cloridrato de sibutramina monoidratado pela Abbott ocorreu na Europa, em 1985, sob registro GB 8531071. A patente foi depositada no Brasil apenas em 1996, sob o número de registro PI 1100069-4 (ABBOTT, 1996). Nesse país, a Abbott também concedeu a comercialização do medicamento à Medley (BVS, 2006). Conforme a lei de patentes (BRASIL, 1996) a patente da Abbott estaria expirada em 2005. No entanto, através de uma ação judicial a Abbott recebeu permissão para a exclusividade de comercialização de composições farmacêuticas contendo sibutramina no Brasil até dezembro de 2006 (ABBOTT, 2006 a). Atualmente, com a expiração do período legal de patente, o cloridrato de sibutramina está disponível para a fabricação de medicamentos industrializados ou manipulados.

Após 1997, a utilização do fármaco foi aprovada pelo FDA para a redução de peso (PR Vade Mécum, 2005; RANG *et al*, 2007). A sibutramina é uma substância de controle especial (BRASIL, 1998; BRASIL, 2007 c), apresentada na forma de cloridrato monoidratado (BUDAVARI, 2001).

3.3.2 Aspectos físico-químicos

A estrutura básica da sibutramina (Figura 1) é a ciclobutanometenamina (USP DI, 2005). Seus nomes químicos são cloridrato de *N*-(1-[1-(4-clorofenil)ciclobutil]-3-

metilbutil)-*N,N*-dimetilamina monoidratado ou 1-(4-clorofenil)-*N,N*-dimetil- α -(2-metilpropil) ciclobutanometamina (BUDAVARI, 2001).

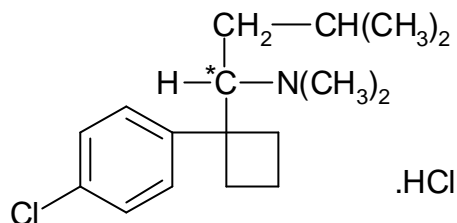


Figura 1. Estrutura química do cloridrato de sibutramina. *Carbono quiral.

No Quadro 3 são apresentados dados para cada forma de apresentação química da sibutramina.

O coeficiente de partição octanol:água do cloridrato de sibutramina é de 30,9, em pH 5 (BUDAVARI, 2001).

O cloridrato de sibutramina é um sal de amina terciária, possuindo, portanto, características de bases (SOLOMONS e FRYHLE, 2005). O pKa estimado para o cloridrato de sibutramina é de 9,6 (VCCLAB, 2007).

Quadro 3. Dados referentes ao registro e molécula das formas de apresentação da sibutramina.

FORMA DADOS	sibutramina anidra	cloridrato de sibutramina	cloridrato de sibutramina monoidratado
Registro no CAS ^{1,2}	106650-56-0	84485-00-7	125494-59-9-9
Número DCB ¹	07984	07985	09375
Fórmula molecular ²	C ₁₇ H ₂₆ ClN	C ₁₇ H ₂₆ ClN.HCl	C ₁₇ H ₂₆ ClN.HCl.H ₂ O
Massa molecular ²	279,86	316,36	334,33

Fonte: 1-BRASIL, 2006 a; 2-BUDAVARI, 2001.

A sibutramina possui um centro estereogênico, resultando na existência de dois enantiômeros (FANG *et al*, 1999). É comercializada na forma de racemato, porém a forma *R* é mais potente (ABBOTT, 2006 b; GLICK *et al*, 2000; MEDLEY, 2006). Os enantiômeros *S* da sibutramina e de seus metabólitos pareceram contribuir mais para a ocorrência de efeitos colaterais em ratos (GLICK *et al*, 2000; RADHAKRISHNA *et al*, 2000).

Já existem métodos descritos para a síntese assimétrica da forma de *R*-sibutramina (HAN *et al*, 2006) e *R*-desmetilsibutramina (FANG *et al*, 1999; HAN *et al*, 2002).

3.3.3 Aspectos terapêuticos

3.3.3.1 Formulações farmacêuticas

A primeira forma farmacêutica para o cloridrato de sibutramina foi desenvolvida pela Abbott. O medicamento denominado Meridia[®] é comercializado até os dias atuais na Europa, nos Estados Unidos e em outros países (USP DI, 2005).

As especialidades farmacêuticas disponíveis no Brasil são Plenty[®] (Medley) e Reductyl[®] (Abbott). Ambos os medicamentos são apresentados em caixas contendo 10 ou 30 cápsulas de 10 ou 15 mg (ABBOTT, 2006 b; MEDLEY, 2006).

3.3.3.2 Indicações e efeitos

A indicação de uso da sibutramina é no manejo da obesidade, geralmente em pacientes com IMC superior a 30 kg/m². Seu uso também é permitido para tratamentos de sobrepeso em indivíduos com IMC entre 27 e 30, mas que apresentem fatores de risco associados, tais como hipertensão, diabetes e dislipidemia (USP DI, 2005).

Vários estudos prospectivos, randomizados e controlados comprovaram a eficácia do cloridrato de sibutramina para a perda de peso (THEARLE e ARONNE, 2003). Entre esses, uma análise foi realizada com pacientes tratados com sibutramina durante um ano *versus* placebo. Demonstrou-se uma perda de peso 4,6% maior nos pacientes que receberam o tratamento em relação ao grupo placebo (JAMES *et al*, 2000). A sibutramina também reduz a gordura visceral e melhora o controle glicêmico e lipídico (FUJIOKA *et al* 2000; RANG *et al* 2007).

Estudo realizado com 605 pacientes demonstrou que após a administração de 10 mg diários de sibutramina durante seis meses, houve a redução dos níveis plasmáticos de triglicerídeos e lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL), enquanto houve aumento de lipoproteínas de alta densidade (HDL) (JAMES *et al*, 2000).

Numa avaliação realizada com culturas de células musculares de ratos (BAILEY *et al*, 2001) e em humanos (KIM *et al*, 2004), os metabólitos da sibutramina apresentaram aumento da recaptação da glicose insulino-dependente. Em ambos os estudos, concluiu-se que a administração de sibutramina facilita o transporte de glicose.

Outra vantagem desse anorexígeno é não reduzir a libido em mulheres, como ocorre com outros inibidores da recaptação de serotonina (KIM *et al*, 2006).

3.3.3.3 Posologia

A sibutramina apresenta significativa relação dose-efeito (JAMES *et al*, 2000; WEINTRAUB *et al*, 1991). Geralmente, é utilizada nas doses de 10 mg ou 15 mg uma vez ao dia preferentemente pela manhã. Pacientes que não toleram essas doses podem administrar 5 mg (PARFITT, 1999; USP DI, 2005). A duração do tratamento até uma redução significativa de peso é de aproximadamente quatro semanas (PR Vade Mécum, 2005).

3.3.3.4 Toxicologia e Abuso

Sobredoses de sibutramina de duas a cinco vezes acima da dose usual (25 a 75 mg), quando comparados com 20 mg do psicoestimulante *D*-anfetamina, não apresentaram riscos pronunciados. Com uma administração da dose de 75 mg foram observadas ansiedade e confusão (SCHUH *et al*, 2000). Caso ocorra sobredose, deve ser feito o monitoramento das funções respiratórias e cardíacas e do estado de outros sinais vitais (PR Vade Mécum, 2005). Há um relato de caso em que uma mulher ingeriu uma dose de 400 mg de sibutramina. Observou-se um aumento da frequência cardíaca (USP DI, 2005).

Devido ao possível efeito da sibutramina no aumento do transporte de glicose para os músculos, ocorreram casos de contaminação proposital de suplementos para atletas com esse fármaco. Quando há diminuição do transporte de glicose no músculo ocorre retardo do consumo de glicogênio e, conseqüentemente, há dor e fadiga muscular no atleta. Assim, esses casos foram considerados *dopping* e os atletas foram impedidos da participação em competições esportivas (ANVISA, 2007).

3.3.3.5 Mecanismo de ação

O mecanismo de ação da sibutramina está envolvido com a inibição da recaptação de serotonina (5-HT), de norepinefrina (PR Vade Mécum, 2005; USP DI, 2005) e de dopamina em menor grau (BALCIOGLU e WURTMAN, 2000). Há indícios de que a potencialização do efeito da serotonina (receptores HT_{2A/2C}) e da norepinefrina (β_1) em nível central é responsável pela sensação de saciedade, enquanto que o efeito sobre os receptores noradrenérgicos periféricos (β_3) provoca um aumento no gasto calórico por aumento da taxa metabólica (PR Vade Mécum, 2005).

Testes *in vitro* demonstraram que o cloridrato de sibutramina é menos potente que os seus dois metabólitos principais. Assim, as suas ações farmacológicas são devidas, predominantemente, aos metabólitos ativos formados por sua desmetilação (USP DI, 2005).

Alguns estudos sugerem que a sibutramina reduz o peso corporal por diminuição da ingestão de calorias e aumento do consumo de energia (HANSEN *et al*, 1998; LIU *et al*, 2002; ROLLS *et al*, 1998).

Esse fármaco não promove liberação de serotonina para os nervos terminais. Assim, a sibutramina apresenta a vantagem de não causar disfunção da válvula cardíaca e hipertensão pulmonar primária, como ocorre com os demais fármacos anorexígenos (KOROLKOVAS *et al*, 2007; USP DI, 2005).

3.3.3.6 Farmacocinética

Dados obtidos de indivíduos normais e pacientes obesos demonstraram que, após administração oral, a sibutramina é rapidamente absorvida (77%). Sua distribuição nos tecidos corporais também é rápida e extensa (GOODMANN, 2006; USP DI, 2005)

Esse fármaco sofre intensa biotransformação pré-sistêmica, principalmente através da isoenzima CYP_{3A4}. Há formação de dois metabólitos ativos (Figura 2): *N*-monodesmetilsibutramina (amina secundária, metabólito 1) e *N*-di-desmetilsibutramina (amina primária, metabólito 2). Esses são hidroxilados e depois de conjugados se tornam metabólitos inativos, sendo eliminados através da via renal. A ligação da sibutramina às proteínas plasmáticas é de 97% e a dos seus dois metabólitos ativos é de 94% (GOODMANN *et al*, 2006; KOROLKOVAS *et al*, 2007; PARFITT, 1999; USP DI, 2005).

A concentração plasmática máxima é obtida após 1,2 horas de administração do fármaco, enquanto a sua meia-vida é de 1,1 horas. Para os metabólitos 1 e 2, a concentração máxima é atingida em 3 horas, com a meia-vida de eliminação de 14 e 16 horas, respectivamente (ABBOTT, 2006; KOROLKOVAS *et al*, 2007; PARFITT, 1999; USP DI, 2005).

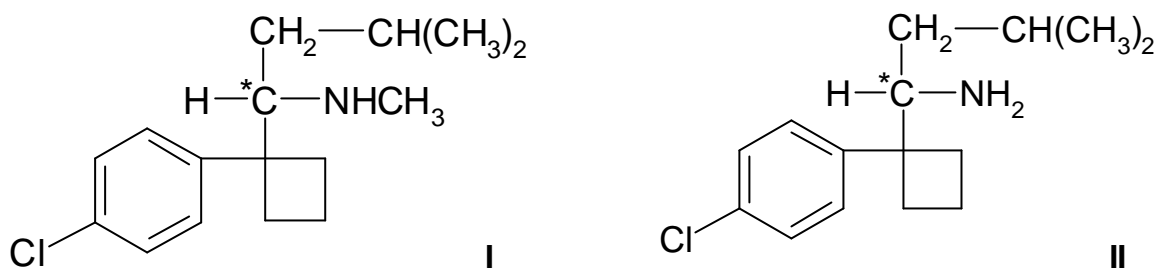


Figura 2. Estruturas químicas de: metabólito 1 (I) e metabólito 2 (II).

Em 18 pacientes obesos, após uma dose unitária de 15 mg de fármaco, a média dos picos das concentrações plasmáticas dos metabólitos 1 e 2 foram de $4 \pm 0,8$ ng/mL e $6,4 \pm 0,8$ ng/mL, respectivamente. Nesse mesmo estudo, provou-se que problemas na função renal não alteram significativamente a concentração plasmática máxima, tempo de meia-vida, e a área sob a curva (ASC) do fármaco ou de seus metabólitos ativos (USP DI, 2005). Entretanto, há recomendações de cautela quando for administrado em nefropatas (KOROLKOVAS *et al*, 2007).

Quando ingerida junto com alimentos aumenta o tempo para atingir o pico de concentração plasmática em três horas e reduz as concentrações plasmáticas dos metabólitos em 30%, mas não afeta a ASC (GOODMANN *et al*, 2006; USP DI, 2005). As concentrações plasmáticas máximas e ASC são levemente maiores em mulheres do que em homens, mas isso não é clinicamente significativo. Assim, não é necessário ajuste de dose (USP DI, 2005).

A grande maioria dos estudos para a sibutramina é na sua forma de cloridrato monoidratado. Um estudo comparou o mesilato de sibutramina hemiidratado com cloridrato de sibutramina monoidratado, através de cada ASC e afirma que ambos são farmacocineticamente equivalentes (PARK *et al*, 2004).

3.3.3.7 Precauções e contra-indicações

Nenhuma evidência de carcinogenicidade e mutagenicidade foi verificada em fêmeas de ratos ou camundongos. Também não houve evidências de

teratogenicidade em avaliações com ratas prenhas, quando administrada numa dose correspondente a uma ASC 43 vezes superior à dose normal para uso humano (USP DI, 2005).

Estudos realizados com ratos demonstraram não haver problemas de fertilidade com a administração de sibutramina. No entanto, não há dados epidemiológicos que averiguem a interferência da sibutramina na gestação. As distribuições do fármaco ou seus metabólitos no leite materno são desconhecidas (USP DI, 2005).

Considerando a escassez ou ausência de estudos para grupos especiais de pacientes, a sibutramina está contra-indicada para: pacientes que apresentem hipersensibilidade a ela, gestantes, lactantes, crianças e adolescentes até 18 anos, idosos acima de 65 anos, hipertensão moderada a grave, consumo de álcool (KOROLKOVAS *et al*, 2007; USP DI, 2005) e pacientes com antecedentes de anorexia nervosa ou bulimia nervosa (PARFITT, 1999; PR Vade Mécum, 2005).

Aconselha-se que o paciente usuário do fármaco não conduza veículos ou opere máquinas pesadas (PARFITT, 1999; PR Vade Mécum, 2005).

3.3.3.8 Interações medicamentosas

Embora a ligação às proteínas plasmáticas seja muito elevada, interações com outros fármacos com essa mesma característica não são comuns. Esse fato é justificado devido à baixa dose do cloridrato de sibutramina (USP DI, 2005). Além disso, as características básicas da sibutramina e de seus metabólitos ativos dificultam a ligação à albumina, principal proteína plasmática à qual se ligam fármacos ácidos (varfarina, antiinflamatórios não-esteróides e sulfonamidas). Assim, a sibutramina pode se ligar às proteínas com características ácidas, que estão em menor quantidade no plasma, sem competir pela ligação com fármacos ácidos (RANG, 2007).

Há interações do cloridrato de sibutramina com inibidores da recaptação da monoaminoxidase (PARFITT, 1999; SCHUH *et al*, 2000), devendo ser respeitado um

prazo de 14 dias entre as administrações deles (KOROLKOVAS *et al*, 2007; USP DI, 2005). O uso concomitante da sibutramina com outros fármacos dotados de ação no SNC também provoca uma interação perigosa (KOROLKOVAS *et al*, 2007). Inibidores da recaptação de serotonina, por exemplo, associados à sibutramina aumentam o risco da síndrome serotoninérgica, incluindo sintomas como agitação, diaforese, perda da coordenação, alterações em nível mental, entre outros (PARFITT, 1999; USP DI, 2005). Se o uso combinado desses medicamentos não puder ser evitado, o paciente deve ser monitorado cuidadosamente para avaliar o aparecimento dos efeitos adversos (TATRO, 2006).

Fármacos que inibem o citocromo P450 podem interferir no efeito farmacológico da sibutramina. O cetoconazol e a eritromicina inibem o metabolismo hepático da sibutramina, pois provocam a inibição da isoenzima CYP_{3A4} do citocromo P450. Já a cimetidina não modifica a eliminação de sibutramina em grau clinicamente significativo (PARFITT, 1999; PR Vade Mécum, 2005; USP DI, 2005).

O efeito da sibutramina pode ser reduzido se administrado simultaneamente com antagonistas adrenérgicos como o metoprolol e prazosina ou com antagonistas serotoninérgicos como a metergolina e ritanserina (KOROLKOVAS *et al*, 2007).

3.3.3.9 Reações adversas

As reações adversas comumente relatadas para a sibutramina são: boca seca, cefaléia, insônia, sonolência, constipação, vertigens e rinite (PARFITT, 1999; USP DI, 2005). Também há suspeitas de amnésia causadas pela sibutramina (CLARK e WOOLRYCH, 2004). Menos freqüentemente são reportados dismenorréia, edema, sintomas semelhantes a resfriados, depressão, rubor, calor, taquicardia, dispnéia, sudorese e alterações do paladar. Em geral, estes efeitos cedem com o tempo e não requerem suspensão do tratamento (PARFITT, 1999; PR Vade Mécum, 2005). O uso do fármaco pode reduzir ou inibir o fluxo salivar, contribuindo para o desenvolvimento de cáries dentárias, doença periodontal, candidíase oral e desconforto (PARFITT, 1999; USP DI, 2005).

Alguns anorexígenos causam sérios efeitos como disfunção da válvula cardíaca e hipertensão pulmonar, devidos à liberação de serotonina para os nervos terminais. Já que o cloridrato de sibutramina é rapidamente transformado em seus metabólitos, esse efeito não poderia ser esperado (USP DI, 2005). Para comprovar tal hipótese, estudos relacionados àquela possível reação adversa foram conduzidos para avaliar o comportamento da sibutramina. Não foram observadas alterações significativas na pressão sangüínea e na taxa de batimentos cardíacos de adultos hipertensos ou normotensos. Ainda assim, a pequena variação dessas medidas leva à recomendação de que seja realizado um monitoramento adequado do paciente (GURSOY *et al*, 2005; MCMAHON *et al*, 2002; PARFITT, 1999). Quando o tratamento do paciente consiste na associação da administração de sibutramina com exercícios físicos e dieta alimentar, a eficácia para a redução de peso e segurança quanto aos riscos cardioestimulantes são pronunciadas (BERUBÉ-PARENT *et al*, 2001).

A avaliação da segurança e eficácia para o uso de sibutramina em indivíduos menores de 16 anos ou acima de 61 anos ainda não está completamente estabelecida. Entretanto, não há problemas relatados até o momento em indivíduos de 61 a 77 anos, com uma dose diária de 15 mg (USP DI, 2005). Um total de 498 adolescentes obesos foi randomicamente dividido para receber uma dose de sibutramina 10 mg ou placebo. Como resultado, observou-se redução significativa do peso corpóreo e os efeitos colaterais foram semelhantes aos já reportados para adultos. O tratamento com sibutramina para essa população demonstrou mínimos efeitos cardiovasculares (DANIELS *et al*, 2007).

3.3.4 Determinação em fluidos biológicos

A sibutramina e seus metabólitos *N*-desmetilados foram determinados simultaneamente em plasma humano (Quadro 4), por CLAE e detecção por espectrometria de massas (CHEN *et al*, 2003; DING *et al*, 2003; HIND *et al*, 1999).

Quadro 4. Comparação das condições gerais empregadas para determinação de sibutramina e seus metabólitos em plasma humano, por CLAE.

Condição	CHEN <i>et al</i> , 2003	DING <i>et al</i> , 2003	HIND <i>et al</i> , 1999
Coluna	Waters Xterra MS C ₁₈ 500 x 2,1 mm; 3,5 µm	Hypersil ODS-2 C ₁₈ 4,6 x 250 mm; 5 µm	Hypersil BDS C8
Fase Móvel	ACN (contendo 0,1% de ácido trifluoroacético) – ácido trifluoroacético 0,1% 55:45 (V/V)	Tampão acetato de amônio 10 mM pH 3,5 – metanol 25:75 (V/V)	Tampão acetato de amônio 0,2 M – ACN 50:50 (V/V)
Detecção	Espectrômetro de massas, com sistema <i>ion trap</i>	Espectrômetro de massas - ESI	Espectrômetro de massas
Volume de Injeção	5 µL	50 µL	10 µL
Substâncias Quantificadas	sibutramina metabólito 2	sibutramina metabólito 1 metabólito 2	metabólito 1 metabólito 2
Padrão Interno	cloridrato de propranolol	cloridrato de fenilpropanolamina	-

3.3.5 Controle de qualidade

Nas farmácias, as matérias-primas sólidas devem ser analisadas, no seu recebimento, efetuando-se, no mínimo, os testes qualitativos: caracteres organolépticos, solubilidade, pH, peso e ponto (ou faixa) de fusão. Podem ser aceitos os demais ensaios farmacopéicos realizados pelos fabricantes/fornecedores desde que esses estejam qualificados pela farmácia (BRASIL, 2007 b).

Uma exigência legal para o monitoramento do processo magistral é a determinação do teor e/ou uniformidade do conteúdo do produto acabado, em casos específicos e com periodicidade estabelecida. É permitida a realização dessas análises em laboratórios terceirizados. Entretanto, muitos métodos requerem aparelhagem disponível no próprio laboratório da farmácia, além de possuírem um custo reduzido. Assim, sua realização deve ser incentivada, a fim de agilizar o processo de garantia da qualidade do serviço prestado (BRASIL, 2007 b).

Nas indústrias farmacêuticas, antes que as matérias-primas sejam liberadas para uso, o responsável pelo controle de qualidade deve garantir que as mesmas sejam testadas quanto à conformidade em relação às especificações de identificação, pureza, teor e outros parâmetros de qualidade. Além disso, é realizado o controle em processo e do produto acabado (BRASIL, 2003 c).

Apesar do consumo elevado, tanto de cápsulas industrializadas quanto de cápsulas manipuladas, a monografia do cloridrato de sibutramina monoidratado ainda não consta em farmacopéias (BP 2007; F. Bras. IV, 2006; Ph. Eur., 2008; USP 31, 2008; WHO, 2004).

A USP 31 (2008) publicou uma lista de fármacos e produtos farmacêuticos, cujas monografias são prioridades para inclusão nas próximas edições, considerando o fato de suas patentes terem sido extintas recentemente. Para o cloridrato de sibutramina, já foi submetida uma monografia para a matéria-prima, mas não para a forma farmacêutica cápsulas.

A determinação de sibutramina foi validada por CLAE, através de dois métodos isocráticos (RADHAKRISHNA *et al*, 2000). Em 2005, XIAO e colaboradores desenvolveram método de separação quiral por CLAE, para os enantiômeros da sibutramina. No Quadro 5 são apresentadas as condições cromatográficas utilizadas nessas determinações.

Foi proposto um método espectrofotométrico na região do UV/Visível, através da formação de um complexo corado específico da sibutramina com vermelho do congo. O método pode ser aplicado para determinação do teor de sibutramina em cápsulas (QIN *et al*, 2006).

A determinação de sibutramina em cápsulas, na presença de seus produtos de degradação induzidos oxidativamente, foi validada por CLAE. Para tanto, foi utilizada Coluna C₁₈ Varian Microsorb-MV 100Å, com dimensões 25 cm x 4,6 mm e poros 5 µm. A fase móvel constou de metanol:água:triethylamina 80:20:0,3 (V/V/V) e o pH foi ajustado para 4,5 com ácido fosfórico. Foi utilizado detector de ultravioleta em 225 nm (SEGALL *et al*, 2003).

Quadro 5. Comparação das condições gerais empregadas para determinação de sibutramina e seus enantiômeros em matéria-prima, através de CLAE.

Condição	RADHAKRISHNA <i>et al</i> , 2000			XIAO <i>et al</i> , 2005
	Método quiral	Método A	Método B	
Coluna	Coluna quiral OD 250 x 4,6 mm; 10 µm	Hypersil C ₁₈ BDS 250 x 4,6 mm; 5µm	Partisphere C ₁₈ 250 x 4,6 mm; 5µm	Coluna não-quiral C
Fase Móvel	Hexano – etanol – ácido trifluoracético 93:7:0,05 (V/V/V)	Tampão hidrogeno-fosfato de amônio 0,05 M pH 6 – ACN 35:65 (V/V)	Água (contendo 1% trietilamina pH 6,0) – ACN 30:70 V/V	Metanol – água (10:90 V/V) contendo 0,8 mmol/L de β-ciclodextrina pH 3,6
Detecção	UV 225nm com DAD	UV 225 nm	UV 225 nm	NC*
Substâncias Analisadas	sibutramina nas formas R e S	sibutramina	sibutramina	sibutramina nas formas R e S
Padrão	-	4-cloro-anilina	lovastatina	Não especificado
Forma	Matéria-prima e seus enantiômeros	Matéria-prima	Matéria-prima	Matéria-prima e seus enantiômeros

NC*: não consta.

Para que um método seja considerado adequado para a análise de determinada amostra é necessária a sua validação. São exigidos vários parâmetros para a avaliação do método, os quais variam de acordo com o equipamento utilizado (ICH, 2005).

3.3.6 Estabilidade

A estabilidade de um medicamento é a extensão na qual um produto mantém, dentro de limites especificados, durante o período de armazenamento e uso, as mesmas propriedades e características que possuíam no momento da sua fabricação (USP 30, 2007).

Fármacos degradados podem resultar em situações indesejáveis para o usuário, tais como: perda ou diminuição da potência, aumento da atividade, geração de efeitos tóxicos ou colaterais (TONNESEN, 1991; TONNESEN, 2001). Por estes motivos, as farmacopéias (BP 2007; F. Bras. IV, 1988; F. Bras. IV, 2006; Ph. Eur., 2005; USP 30, 2007) e PARFITT (1999) descrevem quanto ao armazenamento de cada fármaco, em sua respectiva monografia: “manter ao abrigo da luz” as substâncias fotolábeis; “manter sob refrigeração” ou “manter em local fresco” as substâncias termolábeis; “manter em local seco” as substâncias lábeis à umidade, entre outras recomendações.

A presença de energia luminosa sobre moléculas de fármacos, por exemplo, pode catalisar a ocorrência de reações de decomposição fotoquímica (NUDELMAN, 1975), por motivos como oxidação (fotooxidação), cisão (fotólise) de ligações covalentes ou isomerização fotoinduzida, e também alterar o tempo de validade da formulação (TONNESEN, 2001, USP 30, 2007). A velocidade dessa reação fotoquímica depende da intensidade e do comprimento de onda da luz incidente, além do tamanho, forma, composição e cor da embalagem do medicamento (LACKMAN, 1986; TONNESEN, 2001).

Vários fatores ambientais influenciam na estabilidade, como temperatura, umidade e luz. Outros que contribuem, relacionados ao próprio produto são: propriedades físicas e químicas de substâncias ativas e excipientes farmacêuticos, forma farmacêutica e sua composição, processo de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagem (BRASIL, 2005 b).

Assim, é primordial o conhecimento do grau de estabilidade de fármacos e medicamentos, que envolvem uma série de análises laboratoriais e estatísticas. Existem guias oficiais para a avaliação da estabilidade de fármacos e produtos novos. Essas preconizam a realização de estudos de degradação acelerada, com condições de estresse padronizadas para a exposição à luz ultravioleta, temperatura e umidade (ICH, 1996; ICH, 2003). Além desses, são preconizados estudos de estabilidade de acompanhamento e de longa duração (BRASIL, 2005 b).

Não existem relatos de estudos de estabilidade para o cloridrato de sibutramina monoidratado. Existem apenas avaliações da especificidade, frente a condições de estresse, na validação de técnicas por CLAE (RADHAKRISHNA *et al*, 2000; SEGALL *et al*, 2003).

Considerando-se o risco de indústrias e farmácias magistrais manusearem e armazenarem esta substância em condições ambientais indevidas salienta-se a importância do conhecimento da estabilidade de tal fármaco, conforme já foi evidenciado para outros fármacos (BANSAL *et al*, 2007; MARTINS *et al*, 2004; OMARI *et al*, 2007; TONNESEN, 2001).

4. MATERIAL E MÉTODOS

A maior parte do presente trabalho foi realizada no Laboratório de Química Farmacêutica (LAPPS), desta Faculdade. Algumas análises foram desenvolvidas em outros laboratórios, os quais estão descritos no decorrer do trabalho.

Os métodos analíticos empregados neste trabalho foram aqueles já consagrados e utilizados em farmacopéias, além de condizentes com a sua aplicação em farmácias magistrais.

4.1 SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA E AMOSTRAS

Quatro lotes de cloridrato de sibutramina monoidratado (SQR com teor 99,92%, SIB1, SIB2 e SIB3) foram adquiridos de fornecedores de insumos farmacêuticos, através de uma farmácia magistral. Essas matérias-primas também foram provenientes de diferentes origens (Quadro 6). Todas vieram acompanhadas de certificado de análise do fornecedor.

Quadro 6. Características das amostras de matérias-primas de cloridrato de sibutramina monoidratado utilizadas no presente trabalho.

CÓDIGO	ORIGEM	FORNECEDOR	LOTE	DATA VAL.
SQR	Índia	SP Farma	080903.146	09/2008
SIB1	China	Gerbrás	060310SIBU-HCl	03/2008
SIB2	China	Opção Fênix	L167794	05/2009
SIB3	China	DEG	IF061108	11/2009

Também foram utilizadas cápsulas industriais (CAP) do medicamento referência Reductil[®], da Abbott, com lote 440398F04 e validade 08/2008. Esse produto contém 15 mg de cloridrato de sibutramina monoidratado e os excipientes utilizados pelo fabricante são: celulose microcristalina, dióxido de silício, estearato de magnésio e lactose.

4.2 ANÁLISE QUALITATIVA

4.2.1 Descrição

A SQR e as amostras SIB1, SIB2 e SIB3 do cloridrato de sibutramina foram avaliadas sensorialmente quanto ao aspecto, cor e odor.

4.2.2 Solubilidade

Avaliou-se a solubilidade para a SQR e para a amostra de matéria-prima SIB1, frente a diferentes solventes. Os solventes testados foram: água; metanol; etanol; *N,N*-dimetilformamida; acetato de etila; éter etílico; ácido clorídrico 0,1 *M* e hidróxido de sódio 0,1 *M*.

O teste de solubilidade foi conduzido à temperatura ambiente (25 ± 1 °C). Adicionaram-se volumes crescentes de cada solvente sobre o fármaco, mediante agitação, até a sua completa solubilização. A classificação de solubilidade foi determinada de acordo com a F. Bras.IV (1988).

4.2.3 Determinação do pH em solução

Para a determinação do pH da SQR e da amostra SIB1, foi utilizado um potenciômetro da marca Denver, modelo Ultra Basic UB-10, com compensação automática de temperatura. Acoplou-se a esse um eletrodo de vidro-calomelano pH/ATC. O equipamento foi previamente aferido com as soluções tampão de pH 7,0 e pH 4,0, nessa ordem.

Mediram-se os pH das soluções aquosas do fármaco a 2%. Para tanto, foram preparadas três soluções de SQR e de SIB1, respectivamente, e a determinação foi realizada em triplicada para cada uma delas.

4.2.4 Determinação da faixa de fusão

A faixa de fusão foi determinada em triplicata para a SQR e SIB1. Paralelamente, uma calibração de cada equipamento foi conduzida mediante análise de uma substância padrão, a dicianodiamina (WHO), com ponto de fusão correspondente a 210 °C.

A taxa de aquecimento foi de 10 °C por minuto até atingir a temperatura de 10 °C abaixo do início da faixa de fusão prevista para o fármaco. Após essa temperatura, a taxa foi ajustada para 1 °C por minuto, conforme estabelecido na F. Bras. (1988).

Nas condições citadas, foram usados dois equipamentos de modelos diferentes: o equipamento Mettler Toledo, modelo FP90, e o equipamento de bloco metálico aquecido, segundo Koffler. Os procedimentos foram realizados em triplicata para cada amostra.

Os resultados de faixa de fusão obtidos nos dois equipamentos foram comparados entre si, com os da DSC e com os emitidos no certificado de análise dos fornecedores.

4.2.4.1 Equipamento Mettler Toledo, modelo FP90

As substâncias para análise (SQR e SIB1) foram inseridas em tubos capilares até uma altura de 0,5 cm. Assim, foram acopladas e analisadas no equipamento. A leitura da faixa de fusão foi determinada automaticamente pelo aparelho.

4.2.4.2 Equipamento de bloco metálico aquecido, segundo Koffler

Algumas partículas das substâncias (SQR e SIB1) foram dispostas em uma fina camada, entre lâmina e lamínula. Este conjunto foi adaptado ao bloco metálico aquecido do aparelho da marca Reichert. O aquecimento foi realizado por um

reostato e a temperatura foi controlada por um termômetro acoplado à placa metálica. A fusão dos cristais foi observada com auxílio de microscópio.

4.2.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A SQR e todas as amostras de matéria-prima (SIB1, SIB2 e SIB3) foram submetidas à análise por DSC, com fluxo de calor.

Pesou-se exatamente de 1 a 2 mg de cada amostra em um porta-amostra de alumínio, o qual foi posteriormente tampado e selado em selador adequado. Esse conjunto foi adaptado em um calorímetro diferencial de varredura Shimadzu da série DSC-60. O equipamento foi acoplado a um aplicativo Thermal Analyser TA-60WS e a um controlador de fluxo FC-60A.

O equipamento foi previamente calibrado com índio e zinco. Como referência, foi utilizado um porta-amostra vazio. Os parâmetros experimentais utilizados são informados no Quadro 7.

Quadro 7. Especificações dos parâmetros experimentais utilizados na calorimetria exploratória diferencial às quais as amostras e SQR foram submetidas.

Parâmetro	Especificação
faixa de aquecimento	entre 25 e 260 °C
gás de arraste	nitrogênio
vazão do gás de arraste	50 mL/min
velocidade de aquecimento	10 °C/min

Também foram realizadas alterações do método:

- **Teste 1:** alterou-se a velocidade de aquecimento para 40 °C/min, com aquecimento até 250 °C e manteve-se os demais parâmetros descritos no Quadro 7.

- **Teste 2:** após a análise com os parâmetros normais (Quadro 7), resfriou-se a amostra e aqueceu-se novamente nas mesmas condições.

As análises foram realizadas no Centro de Desenvolvimento Tecnológico (CDTF), da Faculdade de Farmácia da UFRGS.

4.2.6 Termogravimetria

A análise termogravimétrica para a SQR, SIB1, SIB2 e SIB3 foi realizada em equipamento Shimadzu TGA-50H, de 25 a 800 °C, com massas de amostras de 5 a 10 mg. Empregou-se uma taxa de aquecimento de 10 °C/min e fluxo de 50 mL/min para o gás nitrogênio. As amostras foram inseridas em cápsulas de platina e estas acopladas ao equipamento. Obtiveram-se curvas termogravimétricas (TGA), as quais foram posteriormente derivadas (DTG).

Os ensaios foram realizados no Centro Universitário FEEVALE.

4.2.7 Reação para cloretos

Pesaram-se cerca de 20 mg da SQR e SIB1, respectivamente. Adicionou-se 1 mL de água. A esta solução, acrescentaram-se: 1 gota de HNO₃ 1% e 0,5 mL de AgNO₃ 0,1 M. Formou-se um precipitado branco caseoso, o qual foi filtrado com auxílio de papel filtro. O precipitado retido no filtro foi lavado com três porções de 1 mL de HNO₃ 1%. Aguardou-se o escoamento do líquido remanescente no precipitado. Dividiu-se o precipitado entre dois tubos de ensaio. Em um tubo de ensaio, realizou-se o teste de solubilidade com HNO₃ 1%, enquanto no outro com NH₄OH 10%.

4.2.8 Reação para aminas terciárias

A reação foi realizada mediante adição de 1 mL de reagente de Feigl-Ohkuma (ácido cítrico 2%, diluído em anidrido acético) à 10 mg de SQR e de SIB1, respectivamente. A seguir, aqueceu-se em banho-maria por cerca de cinco minutos.

A positividade do teste é confirmada pelo aparecimento de coloração vermelho escuro à marrom. O conteúdo das cápsulas de sibutramina (CAP) também foi avaliado por esse teste. Para tanto, filtrou-se a solução após a adição do reagente. A seletividade do ensaio foi avaliada mediante análise de outras moléculas de aminas: etilamina, cloridrato de fluoxetina e trietilamina.

4.2.9 Rotação óptica específica

A rotação óptica específica foi determinada em polarímetro Perkin Elmer 341, em temperatura ambiente ($20 \pm 0,5$ °C). Utilizou-se uma cubeta de quartzo com 1 dm de percurso óptico. A análise foi realizada com 589,3 nm de comprimento de onda da raia D de sódio.

Prepararam-se três soluções etanólicas a 1% p/V para cada análise (SQR e SIB1). A determinação foi realizada em triplicada para cada uma delas.

Os cálculos foram efetuados pela substituição dos valores na Equação 1.

Equação 1

$$[\alpha]_D^{20} = \alpha/l.c$$

Onde:

α = ângulo de rotação;

l = comprimento, em dm, da cubeta do polarímetro;

c = concentração da substância, expressa em porcentagem p/V.

4.2.9 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Para o desenvolvimento do método, foram testadas diferentes quantidades de amostra por ponto de aplicação na placa, várias fases móveis, reveladores e substâncias de comparação. O método que apresentou os melhores resultados, associado à simplicidade de realização está detalhado no Quadro 8.

Quadro 8. Condições cromatográficas empregadas para análise por CCD de SQR, SIB1. e CAP.

CONDIÇÃO	DESCRIÇÃO
Quantidade por ponto de aplicação	30 µg
Fase estacionária	cromatoplasmas de gel de sílica GF 254 Merck
Eluente	etanol P.A.
Substância de comparação	cloridrato de diltiazem
Reveladores	vapores de iodo ou lâmpada UV 254 nm

Preparou-se uma cuba de vidro adicionando-se uma quantidade suficiente do eluente para atingir uma altura de 1 cm. Saturou-se a cuba com o eluente.

Para a aplicação da SQR, amostra SIB1, conteúdo de CAP e substância de comparação nas cromatoplasmas, foram preparadas soluções etanólicas na concentração de 15 mg/mL do fármaco. Utilizou-se um capilar com volume de 2 µL para a aplicação dos pontos contendo as substâncias em análise.

Os pontos de aplicação apresentaram uma distância de 1 cm entre si e de 1,5 cm da borda lateral da cromatoplasma. Além disso, a aplicação foi realizada numa distância de 1 cm da borda inferior da cromatoplasma. Aguardou-se a evaporação do solvente da solução e inseriu-se a cromatoplasma verticalmente numa cuba de vidro previamente preparada para a migração do eluente. Fechou-se a cuba e aguardou-se que o eluente migrasse 7 cm.

Após a secagem do eluente em temperatura ambiente, procedeu-se a revelação das manchas correspondentes à migração das amostras a partir dos seus respectivos pontos de aplicação. Por fim, determinaram-se os tempos de retenção (R_f), mediante a determinação das distâncias percorridas de cada mancha e do eluente.

O R_f da amostra foi comparado com o R_f do cloridrato de diltiazem, em análise simultânea na mesma placa. O R_x foi calculado de acordo com a Equação 2.

Equação 2

$$R_x = R_{f_A} / R_{f_R}$$

Onde:

R_{f_A} = fator de retenção da amostra

R_{f_R} = fator de retenção da substância de comparação

4.2.10 Espectrofotometria na região do infravermelho (IV)

Os espectros foram registrados em espectrofotômetro de absorção na região do infravermelho (marca Bomen-Hartmann & Braun, série MB), na faixa de 400 a 4000 cm^{-1} . Para tanto, foram produzidas pastilhas de 150 mg de brometo de potássio contendo 1% da SQR e da amostra SIB1, respectivamente, do cloridrato de sibutramina monoidratado. Realizou-se a análise da SQR dessecada e não dessecada. As amostras SIB1, SIB2 e SIB3 foram analisadas na forma não dessecada.

Previamente à avaliação das amostras foi realizado um ensaio em branco com uma pastilha contendo 150 mg de brometo de potássio P.A.

As análises foram realizadas no Instituto de Física desta Universidade.

4.2.11 Espectrofotometria na região do ultravioleta (UV)

Os espectros foram obtidos em espectrofotômetro de absorção na região do ultravioleta (Shimadzu UV-1601PC). Foram traçados espectros com comprimento de onda entre 200 e 400 nm, empregando cubetas de quartzo com 1 cm de percurso óptico.

Como diluentes, foram testados: metanol, etanol e solução de ácido clorídrico 0,1 M. Todos os reagentes utilizados nessa análise foram de grau analítico.

A concentração da amostra em solução também foi alterada e avaliada. Avaliaram-se os espectros obtidos a partir de soluções com concentrações de 10, 20 e 30 µg/ml.

4.2.12 Aquametria

Foram testados e comparados os resultados dos dois métodos descritos a seguir.

4.2.12.1 Método volumétrico por Karl-Fischer

O equipamento utilizado foi DL 37 Mettler Toledo, com detecção coulométrica do ponto final. Pesaram-se exatamente cerca de 30 mg da substância em cada análise. Determinou-se o teor de água da SQR e da amostra SIB1, em triplicata, e em três dias diferentes.

Paralelamente, procedeu-se um ensaio em branco, com a finalidade de descontar o volume de titulante correspondente à água presente no ar do ambiente de análise.

4.2.12.2 Método gravimétrico

Conforme o procedimento geral descrito na F. Bras IV (1988) para a determinação da perda por dessecação, cada ensaio foi efetuado por secagem em estufa até peso constante. Determinou-se a aquametria da SQR e da amostra SIB1, em triplicata, e em três dias diferentes.

Além da temperatura usual de 105 °C, foram testadas temperaturas superiores. Avaliaram-se as perdas de massa mediante dessecação nas temperaturas de 110 e 120 °C. Escolheram-se as condições que forneceram resultados mais reprodutíveis e coerentes com aqueles obtidos pelo método volumétrico.

4.3 ANÁLISE QUANTITATIVA

4.3.1 Volumetria em meio não-aquoso (VMNA)

Testaram-se seis métodos diferentes para o doseamento do cloridrato de sibutramina monoidratado por VMNA.

Para a realização de cada método, pesaram-se exatamente cerca de 160 mg da amostra SIB1 de cloridrato de sibutramina monoidratado. A amostra foi solubilizada em ácido acético glacial. Em seguida, adicionaram-se o acetato mercúrico 6% ou o anidrido acético, além de uma solução indicadora. Essa solução foi titulada com ácido perclórico 0,05 M. Efetuou-se um ensaio em branco e este volume foi descontado do volume do titulante gasto no doseamento do fármaco.

Os métodos foram codificados de 1 a 6. As diferenças entre os métodos, as quais corresponderam ao aspecto quali e quantitativo de soluções e reagentes empregados, estão descritas no quadro 9.

Quadro 9. Descrição quali e quantitativa das soluções e reagentes empregados em cada método testado por VMNA para o doseamento do cloridrato de sibutramina monoidratado.

MÉTODO	Ácido acético glacial (mL)	Acetato mercúrico 6% (mL)	Anidrido acético (mL)	Indicador de ponto final
1	40	3	-	Cristal violeta SI
2	40	3	-	Naftolbenzeína SI
3	40	3	-	Potenciômetro
4	15	-	30	Cristal violeta SI
5	15	-	30	Naftolbenzeína SI
6	15	-	30	Potenciômetro

Optou-se pelo uso de indicadores adequados para a técnica por VMNA e com fácil diferenciação das cores. Desses, utilizaram-se o cristal violeta SI (quatro gotas) e naftolbenzeína SI (dez gotas), os quais alteram a cor da solução para verde esmeralda e verde, respectivamente. As soluções indicadoras utilizadas na titulação foram preparadas de acordo com a recomendação da F. Bras. IV (1988).

Em cada método com o uso de solução indicadora de ponto final (métodos 1, 2, 4 e 5), procedeu-se, paralelamente, uma titulação potenciométrica (métodos 3 e 6). Para tanto, utilizou-se um potenciômetro da marca Digimed modelo DMPH-2, acoplado a um eletrodo de vidro-calomelano.

O ácido perclórico 0,05 M utilizado foi diluído em ácido acético glacial e padronizado frente a uma solução titulante de biftalato de potássio (F. Bras. IV, 1988). Cada solução de amostra ou substância de referência foi titulada, no mínimo cinco vezes, obtendo-se um coeficiente de variação inferior a 1%.

Cada mL de titulante 0,05 M equivale a 16,71 mg de cloridrato de sibutramina monoidratado.

Os seis métodos foram comparados por análise de variância (ANOVA) e, posteriormente, os resultados de dois deles foram comparados com os obtidos por um método por CLAE previamente validado.

4.3.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Para o desenvolvimento e validação do método por CLAE, utilizou-se um cromatógrafo a líquido Shimadzu LC-10ADvp. Este equipamento foi acoplado a detector de arranjo de fotodiodos SPD-10AV_{VP} (DAD), degaseificador DGU-14A, central de controle SCL-10A_{VP} e injetor manual Rheodyne. Os dados foram obtidos e analisados com o auxílio do aplicativo Class-VP.

As fases móveis foram preparadas com solventes de grau analítico adequado para o método de CLAE (J.T. Baker[®]). A água ultrapura utilizada foi obtida em um sistema MilliQ[®] Millipore.

O método desenvolvido foi validado para matéria-prima e cápsulas industrializadas do cloridrato de sibutramina monoidratado. Para a validação do método para a matéria-prima, foram utilizados a SQR e a amostra SIB 1, enquanto para cápsulas industrializadas foi empregada a amostra CAP.

Na fase de desenvolvimento do método, realizaram-se vários testes, com diferentes composições e pH da fase móvel, colunas e fluxos. As condições cromatográficas do método, que apresentaram os melhores resultados para a validação, constam no quadro 10.

Cada solução de amostra ou substância de referência foi injetada, no mínimo três vezes, esperando-se obter um coeficiente de variação inferior a 1% (FDA, 1994).

Os parâmetros utilizados para a validação foram: especificidade, linearidade, precisão, exatidão e robustez (BRASIL, 2003 b; ICH, 2005; USP 30, 2007).

Quadro 10. Condições cromatográficas utilizadas para a validação do método por CLAE para a análise do cloridrato de sibutramina monoidratado.

Condição	Descrição
Coluna	Macherey-Nagel Nucleosil® C ₈ ec, 150 x 4,0 mm, partículas 5 µm, poros 100 ?
Pré coluna	Phenomenex®
Fase móvel	ACN e água (75:25 V/V), 0,3% trietilamina, pH 7,0 (H ₃ PO ₄)
Volume de injeção	20 µL
Fluxo da fase móvel	1,2 mL/min
Detecção	ultravioleta, com $\lambda = 225$ nm

4.3.2.1 Especificidade

A especificidade do método por CLAE foi determinada mediante a análise da SQR do cloridrato de sibutramina monoidratado na presença de seus produtos de degradação. Para tanto, forçou-se a degradação do fármaco frente a várias condições de estresse, conforme descritas a seguir.

4.3.2.1.7 Temperatura

Pesaram-se exatamente cerca de 32 mg da SQR do cloridrato de sibutramina monoidratado, o qual permaneceu em estufa a 80 °C, durante 24 horas. Realizou-se a primeira diluição com metanol e a segunda com a fase móvel, a fim de obter uma solução com 60 µg/mL do fármaco.

Para a avaliação do comportamento do fármaco na forma farmacêutica cápsulas (CAP), nessa condição de estresse por 10 dias, pesou-se o seu conteúdo e procedeu-se da mesma forma descrita para a matéria-prima, sendo necessária, no entanto, uma etapa de filtração após a primeira diluição.

4.3.2.1.8 Luz ultravioleta

Preparou-se uma solução metanólica contendo 600 µg/mL da SQR do cloridrato de sibutramina. Uma alíquota de 1,0 mL dessa solução foi exposta à radiação ultravioleta (254 nm) durante 24 horas, em cubeta de plástico transparente. Após este período, realizou-se uma diluição com a fase móvel, a fim de obter uma solução com 60 µg/mL do fármaco.

Procedeu-se simultaneamente um ensaio em branco com a SQR. Esse foi realizado mediante a proteção da cubeta, de forma que a luz não incidisse na solução com o fármaco.

4.3.2.1.9 Hidrólise ácida

Pesaram-se exatamente cerca de 32 mg da SQR do cloridrato de sibutramina monoidratado em balão volumétrico de 25 mL. Adicionaram-se 10 mL de HCl 1 M e a mistura foi agitada mecanicamente durante duas horas. Em seguida, neutralizou-se a solução com NH₄OH 1 M e diluiu-se com a fase móvel até a obtenção de uma solução contendo 60 µg/mL do fármaco. O mesmo procedimento foi realizado para o fármaco na forma farmacêutica cápsulas, realizando-se uma filtração após a primeira diluição.

4.3.2.1.10 Hidrólise alcalina

Pesaram-se exatamente cerca de 32 mg da SQR do cloridrato de sibutramina monoidratado em balão volumétrico de 25 mL. Adicionaram-se 10 mL de NaOH 1 M e a mistura foi agitada mecanicamente durante duas horas. Em seguida, neutralizou-se a solução com H₃PO₄ 10% e diluiu-se com a fase móvel até a obtenção de uma solução contendo 60 µg/mL do fármaco. O mesmo procedimento foi realizado para o fármaco na forma farmacêutica cápsulas, realizando-se uma filtração após a primeira diluição.

4.3.2.1.11 Oxidação

Pesaram-se exatamente cerca de 32 mg da SQR do cloridrato de sibutramina monoidratado em balão volumétrico de 25 mL. Adicionaram-se 10 mL de peróxido de hidrogênio 3% e a mistura foi agitada durante duas horas. Diluiu-se com a fase móvel até a obtenção de uma solução com 60 µg/mL do fármaco. O mesmo procedimento foi realizado para o fármaco na forma farmacêutica cápsulas, realizando-se uma filtração após a primeira diluição.

4.3.2.1.6 Solução simulada de excipientes

Para avaliar a especificidade do método para o doseamento do fármaco na presença de excipientes presentes na formulação, preparou-se uma solução simulada contendo os últimos. Realizaram-se as diluições de acordo com o procedimento para cápsulas, ou seja, a primeira diluição em metanol e a segunda em fase móvel. A solução final desse placebo foi constituída de: dióxido de silício, estearato de magnésio, lactose e celulose microcristalina, nas concentrações 10, 20, 490 e 520 µg/mL, respectivamente.

4.3.2.2 Linearidade

Para a constatação da linearidade do método proposto, por CLAE, construíram-se três curvas padrão, sendo cada uma em um dia diferente. Cada curva foi realizada com sete concentrações diferentes.

Para cada curva, preparou-se uma solução metanólica da SQR, numa concentração de 250 µg/mL referente ao cloridrato de sibutramina anidro. Alíquotas dessa solução-estoque foram transferidas para balões volumétricos, com o auxílio de uma bureta. As soluções finais foram diluídas na fase móvel empregada no método desenvolvido por CLAE. O esquema de diluições utilizado para o preparo de cada solução, bem como as respectivas concentrações obtidas, estão demonstrados na Tabela 1.

Realizaram-se três injeções para cada solução da curva padrão. Calculou-se a média das áreas obtidas para os pontos de cada curva. Os valores das áreas médias absolutas foram plotados *versus* as respectivas concentrações ($\mu\text{g/mL}$) para a obtenção do gráfico da curva padrão.

A regressão linear pelo método dos mínimos quadrados foi utilizada para as determinações da equação da reta e do coeficiente de correlação (r). Por fim, a linearidade do método foi estabelecida mediante a análise de variância (ANOVA) dos resultados.

Tabela 1. Esquema de diluições utilizado nas curvas-padrão, a partir de uma solução estoque contendo 250 $\mu\text{g/mL}$ da SQR.

PONTO Nº	Alíquota da solução estoque de SQR (mL)	Balão volumétrico (mL)	Concentração final (mg/mL)
1	3,0	25,0	30,0
2	4,0	25,0	40,0
3	5,0	25,0	50,0
4	6,0	25,0	60,0
5	7,0	25,0	70,0
6	8,0	25,0	80,0
7	9,0	25,0	90,0

4.3.2.3 Limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

O limite de detecção (LD) foi estimado através da Equação 3, enquanto o limite de quantificação (LQ) foi calculado através da Equação 4. Essas equações consideram os dados obtidos para as curvas-padrão (BRASIL, 2003 b; ICH, 2005; USP 30, 2007).

Equação 3 $LD = (3,3 \times s) / b$

Equação 4 $LQ = (10 \times s) / b$

Onde:

s = desvio padrão médio do intercepto de três curvas padrão;

b = coeficiente de correlação linear.

4.3.2.4 Precisão

A precisão do método por CLAE foi estabelecida através de análises de soluções do cloridrato de sibutramina em três diferentes dias, comparando-se a amostra SIB1 com a SQR. Para tanto, pesaram-se exatamente cerca de 32 mg da de cloridrato de sibutramina monoidratado e esse foi dissolvido e diluído com metanol em balão volumétrico de 25 mL. Transferiu-se uma alíquota de 1,0 mL desta solução para um balão volumétrico de 20 mL. Completou-se o volume com a fase móvel descrita no Quadro 10 (p. 47), obtendo-se uma solução para análise com 60,0 µg/mL.

Em cada dia foram preparadas e analisadas seis diferentes soluções contendo 60,0 µg/mL de cloridrato de sibutramina anidro, as quais foram pesadas individualmente. No total dos três dias foram analisadas 18 soluções. Realizaram-se três injeções para cada solução.

A precisão do método para a determinação do fármaco em CAP foi determinada da mesma maneira descrita para matéria-prima. No entanto, adaptou-se a massa a ser pesada de acordo com o peso médio das cápsulas e seu respectivo conteúdo de fármaco. Além disso, filtrou-se a solução metanólica antes da transferência da alíquota de 1,0 mL para o balão volumétrico de 20 mL.

A repetibilidade foi avaliada pelo cálculo dos DPR das médias das seis determinações diárias. Enquanto a precisão intermediária foi verificada através do desvio padrão relativo (DPR) das médias obtidas nos três dias (BRASIL, 2003 b; ICH, 2005; USP 30, 2007). As concentrações das soluções de amostra foram calculadas através da Equação 5 (F. Bras. IV, 1988), seguidas da Equação 6.

Equação 5
$$C_A = A_A \cdot C_{SR} / A_{SR}$$

Equação 6
$$C_A (\%) = C_A \cdot 100 / C_T$$

Onde:

C_A = concentração real do fármaco na solução de amostra (mg/mL);

A_A = área absoluta da amostra (média de três injeções);

C_{SR} = concentração do fármaco na solução da substância de referência (mg/mL);

A_{SR} = área absoluta da substância de referência (média de três injeções);

$C_A (\%)$ = concentração do fármaco na amostra;

C_T = concentração teórica do fármaco na solução de amostra (mg/mL).

4.3.2.5 Exatidão

A exatidão do método para a determinação de matéria-prima foi inferida a partir dos resultados obtidos nas avaliações da especificidade, linearidade e precisão.

Para o produto acabado, avaliou-se a exatidão do método através de testes de recuperação do fármaco. Para tanto, adicionaram-se quantidades conhecidas da SQR sobre a amostra de cápsulas.

Prepararam-se as seguintes soluções metanólicas:

- **Solução da amostra (S_A):** realizou-se o peso médio do conteúdo da amostra CAP. A seguir, pesou-se uma quantidade do seu conteúdo para preparar uma solução contendo exatamente cerca de 250 $\mu\text{g/mL}$ de cloridrato de sibutramina anidro. Diluiu-se em metanol e filtrou-se com auxílio de papel filtro.
- **Solução da SQR (S_P):** preparou-se uma solução contendo exatamente cerca de 250 $\mu\text{g/mL}$ de cloridrato de sibutramina anidro. Diluiu-se em metanol e filtrou-se com auxílio de papel filtro.

Alíquotas das soluções S_A e S_P foram utilizadas para preparar as soluções para avaliação da recuperação da SQR na amostra de CAP. Obtiveram-se soluções com concentrações finais de 50, 60 e 70 $\mu\text{g/mL}$. O esquema utilizado para o preparo destas soluções, com mistura de alíquotas de S_A e S_P , está demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Esquema para o preparo das soluções para avaliação da recuperação do cloridrato de sibutramina na sua determinação em cápsulas.

Solução	Alíquota de S_A (mL)	Alíquota de S_P (mL)	Balão volumétrico (mL)	Concentração final teórica (%)
A	4	0	25	40
A_1	4	1	25	50
A_2	4	2	25	60
A_3	4	3	25	70
P	0	4	25	40

4.3.2.6 Robustez

Algumas variações das condições cromatográficas estipuladas (Quadro 10, p. 47) foram realizadas para avaliar o parâmetro de robustez do método desenvolvido por CLAE. As alterações são apresentadas no Quadro 11. As demais condições foram mantidas.

Prepararam-se soluções estoque contendo 600 µg/mL de SQR e de SIB1, respectivamente, as quais foram diluídas em metanol. As soluções finais, na concentração de 60 µg/mL, foram diluídas na fase móvel referente à cada condição de avaliação.

Além das alterações descritas, analisou-se a solução de SQR em outro cromatógrafo a líquido de alta eficiência. Utilizou-se o equipamento Shimadzu LC-10AD, acoplado a detector de ultravioleta SPD-10A, degaseificador DGU-14A, central de controle SCL-10A_{VP} e injetor manual Rheodyne. Os dados foram obtidos e analisados com o auxílio do aplicativo Class-VP.

Quadro 11. Modificações das condições cromatográficas para a avaliação da robustez do método por CLAE.

Coluna*	Fase móvel	
	ACN:água (% V/V)	pH da água
Macherey-Nagel Nucleosil [®] ec	75:25	7,0
Macherey-Nagel Nucleosil [®] ec	75:25	6,8
Macherey-Nagel Nucleosil [®] ec	75:25	7,2
Macherey-Nagel Nucleosil [®] ec	73:27	7,0
Macherey-Nagel Nucleosil [®] ec	77:23	7,0
Shimadzu	75:25	7,0

* Coluna C₈ 150 x 4,0 mm, partículas 5 µm, poros 100 ?.

4.3.3 Comparação estatística entre os métodos de doseamento

Os resultados obtidos em dois métodos por VMNA foram comparados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) com o método por CLAE validado.

4.4 ESTUDO PRELIMINAR DA ESTABILIDADE

Realizaram-se estudos preliminares e acelerados de estabilidade do fármaco, frente à temperatura, e à radiação UVB e UVC. Cada fator foi avaliado com a SQR cloridrato de sibutramina monoidratado, antes e após vários tempos de degradação, os quais foram estabelecidos experimentalmente. As avaliações dos teores e produtos de degradação foram acompanhadas por CLAE.

4.4.1 Exposição à temperatura elevada

Pesou-se uma quantidade de SQR para obter uma solução final com 60 µg/mL. A SQR do fármaco foi submetida à temperatura de 60 °C, em estufa, pelo período de um, dois, três e dez dias. Após cada tempo de exposição, o fármaco foi diluído em metanol e posteriormente em fase móvel. Realizaram-se três injeções para cada tempo de exposição.

4.4.2 Exposição à radiação ultravioleta

Submeteu-se 1,0 mL de solução metanólica contendo 600 µg/mL da SQR à radiação UV 254 nm (lâmpada Philips TUV lamp; 30 W; 96 V; 0,36 A) e UV 352 nm (Blacklight blue lamp, marca Orion; 30 W; 130V), respectivamente, em câmara espelhada internamente. Após o período de um, dois, três e quatro dias de exposição à radiação UVA ou UVB, diluiu-se a alíquota em fase móvel para obter uma

solução com a concentração de 60 µg/mL. Realizaram-se três injeções para cada tempo de exposição.

O estudo foi realizado em solução porque essa condição permite melhor penetrabilidade da luz em comparação à substância no estado sólido (CONNORS, 1986). Paralelamente, submeteu-se uma amostra às mesmas condições, porém com proteção à incidência de radiação (substância não degradada).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA E AMOSTRAS

Em casos de inexistência de substâncias de referência oficializadas por códigos autorizados pela legislação vigente, admite-se o uso de padrões de trabalho. Tais padrões devem ter a sua identidade e o seu teor adequadamente comprovados (BRASIL, 2003 b).

Neste trabalho, utilizou-se um padrão de trabalho, denominado SQR, que foi caracterizado e quantificado, a fim de garantir a sua identidade e um grau de pureza aceitável. Para tanto, foi necessário escolher um dos lotes das amostras adquiridas de matérias-primas do fármaco. O critério de escolha para a SQR foi embasado nos resultados obtidos por DSC. A escolha da SIB1 para ser analisada por todos os métodos qualitativos e quantitativos também foi embasada nesse teste (item 5.2.5, p. 66).

A SQR, a SIB1 e as demais amostras (SIB2 e SIB3) foram utilizadas para a avaliação do comportamento termoanalítico do fármaco, pelas técnicas de: DSC e TGA.

Todas as análises foram realizadas com a SQR ou a amostra na sua forma não dessecada. Optou-se por isso, pois houve indícios de degradação térmica do fármaco mediante dessecação em estufa (item 5.2.13.2, p. 83), o que poderia interferir nas análises. Os ensaios de doseamento foram sempre acompanhados da determinação do teor de água pelo método volumétrico (Karl Fischer), o qual foi considerado nos respectivos cálculos.

O doseamento do fármaco no produto acabado (CAP) foi validado por CLAE. O valor rotulado de cada cápsula é de 15 mg de cloridrato de sibutramina monoidratado, equivalendo a 12,55 mg de sibutramina base anidra. O peso médio do conteúdo de 20 cápsulas foi de 0,2431 g, determinado de acordo com F. Bras. N (1988).

5.2 ANÁLISE QUALITATIVA

Os testes qualitativos são realizados para garantir a identidade de determinada substância em uma amostra. Isso, geralmente, é demonstrado mediante a comparação das propriedades da amostra com uma substância de referência (ICH, 2005).

A análise qualitativa do cloridrato de sibutramina monoidratado incluiu métodos capazes de assegurar a identificação, sendo muitos deles também passíveis de realização em farmácias magistrais.

5.2.1 Descrição

A avaliação dos caracteres organolépticos, por um analista experiente, pode contribuir para o controle de qualidade de uma matéria-prima farmacêutica. Tais características podem evidenciar a ocorrência de degradações do fármaco.

A SQR e amostra SIB1 do cloridrato de sibutramina monoidratado apresentaram-se como um pó branco à quase branco, cristalino e com odor característico. Os resultados obtidos estavam conforme a especificação descrita no certificado de análise emitido pelo fornecedor do fármaco.

Mediante uma avaliação macroscópica foi possível verificar que os tamanhos das partículas da SQR, SIB1 e SIB2 do fármaco eram semelhantes entre si. No entanto, as partículas da amostra SIB3 eram visivelmente maiores.

É importante que o fabricante padronize o tamanho das partículas da matéria-prima utilizada na formulação farmacêutica, realizando um controle por meio de análise granulométrica. Afinal, tal medida é uma das características que exerce influência na taxa de dissolução do fármaco nos fluidos gastrintestinais. Esse fator pode contribuir na absorção, principalmente em casos de fármacos pouco solúveis (ANSEL *et al*, 2000; GOODMAN *et al*, 2006; RANG *et al*, 2007).

5.2.2 Solubilidade

Apesar da técnica para a determinação da solubilidade ser simples, uma avaliação precisa é relativamente difícil (KAWAKAMI *et al*, 2005) e não deve ser considerada como uma constante física (F. Bras. IV, 1988). Ainda assim, os resultados da solubilidade podem ser úteis para predizer a qualidade de uma matéria-prima farmacêutica.

Quando a solubilidade obtida apresenta elevada discrepância quanto à especificação, a justificativa pode ser uma ou mais das seguintes: ocorrência de polimorfismo, presença de impurezas ou a identidade do fármaco não é confirmada (GU e GRANT, 2001).

A avaliação da solubilidade para a SQR e a amostra SIB1, em diversos solventes, está demonstrada no Quadro 12. A classificação de solubilidade obtida foi idêntica para SQR e SIB1, frente aos solventes testados.

A amostra SIB2 diferiu de SQR e SIB1 quanto à solubilidade apenas em acetato de etila (muito pouco solúvel) e em ácido clorídrico 0,1 M (pouco solúvel). A amostra SIB3 apresentou a mesma solubilidade que SQR e SIB1 nos solventes metanol, etanol e acetato de etila, enquanto nos demais solventes mostrou um nível de solubilidade superior.

De acordo com BUDAVARI (2001), o cloridrato de sibutramina monoidratado apresenta uma solubilidade de 2,9 mg/mL em água, em pH 5,2. O resultado encontrado foi condizente com essa especificação, ou seja, pouco solúvel.

O certificado de análise dos fabricantes do cloridrato de sibutramina monoidratado informou que este é facilmente solúvel em metanol e *N,N*-dimetilformamida. Contudo, para o metanol, houve alteração do termo descritivo de solubilidade em um nível, apresentando maior solubilidade que a indicada, o que é perfeitamente aceitável.

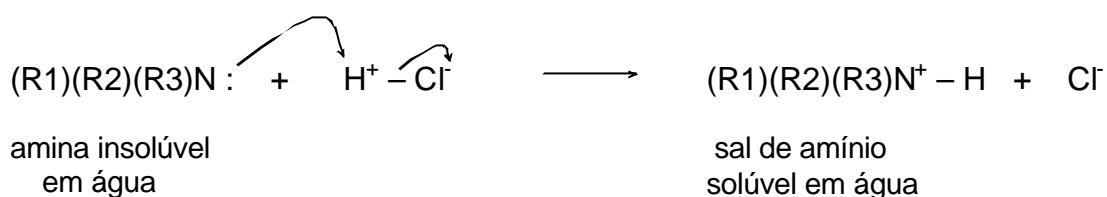
Quadro 12. Avaliação da solubilidade para SQR e SIB1, conforme a classificação descrita na F. Bras. IV (1988).

Solvente	Termo Descritivo para SQR e SIB1	Classificação de Solubilidade*
Água	Pouco solúvel	De 100 a 1.000 partes
Metanol	Muito solúvel	Menos de 1 parte
Etanol	Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
<i>N,N</i> -Dimetilformamida	Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
Acetato de etila	Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10.000 partes
Éter etílico	Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10.000 partes
HCl 0,1 <i>M</i>	Muito pouco solúvel	De 1.000 a 10.000 partes
NaOH 0,1 <i>M</i>	Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10.000 partes

* Conforme a F. Bras. IV (1988), o termo *partes* refere-se à dissolução de 1 g do fármaco por mililitros do solvente estabelecido no número de *partes*.

O cloridrato de sibutramina monoidratado apresentou maior solubilidade em solventes polares (metanol, etanol e *N,N*-dimetilformamida) do que em solventes pouco polares (éter etílico e acetato de etila). No entanto, o fármaco não apresentou solubilidade em água. Logo, verificou-se que a molécula do fármaco é moderadamente polar. Certamente, a formação do sal de cloridrato na molécula do fármaco colaborou para o aumento de sua solubilidade.

A maior solubilidade do cloridrato de sibutramina monoidratado em uma solução ácida diluída (HCl 0,1 *M*) do que em soluções alcalinas é uma característica dos sais de aminas não solúveis em água. O mecanismo que justifica tal característica está apresentado no Esquema 1 (SOLOMONS e FRYHLE, 2005).



Esquema 1

5.2.3. Determinação do pH em solução

A medida potenciométrica de pH ocorre mediante alteração do potencial de uma célula galvânica, a qual é inserida na solução cujo pH se quer determinar. A determinação do pH em solução aquosa constitui um método rápido e simples, auxiliando na caracterização do fármaco (KOROLKOVAS, 1988).

A média dos resultados obtidos na determinação do pH das soluções de SQR e SIB1 é apresentada na Tabela 3.

Tabela 3. Média da determinação do pH de soluções aquosas a 2% da SQR e amostra SIB1.

	SQR	SIB1
Média (%)	4,92	4,70
DPR (%)	0,48	0,53

Os valores de pH obtidos estão dentro da faixa de pH especificada no certificado de análise emitido pelos fornecedores do fármaco, ou seja, de 4,5 a 5,5 para uma solução aquosa a 2%.

5.2.4. Determinação da faixa de fusão

A determinação desse parâmetro infere a pureza de uma substância química, quando comparado com uma substância padrão ou dados de literatura (SHRINER *et al*, 2004). Entretanto, para a confirmação da identidade do fármaco é necessária a realização de ensaios complementares a esse.

No equipamento Mettler Toledo, modelo FP90, a faixa de fusão foi determinada mediante a passagem de luz através do tubo capilar no momento em que iniciou e em que terminou a fusão do sólido. Já no equipamento de bloco metálico aquecido, segundo Koffler, a verificação da faixa de fusão foi acompanhada visualmente através do microscópio.

Os resultados obtidos nos equipamentos, para três determinações de faixas de fusão para SQR e SIB1, foram corrigidos em relação a uma substância padrão e estão dispostos na Tabela 4. Concomitantemente, é realizada a comparação com os resultados presentes nos certificados de análise dos fornecedores e as faixas de fusão obtidas por DSC (item 5.2.5). Não foi calculado o DPR dos resultados, pois os valores obtidos representam uma faixa e não um ponto de fusão.

Tabela 4. Comparação dos valores das faixas de fusão obtidas para SQR e SIB1, pelo fornecedor e pelos equipamentos segundo Koffler, Mettler Toledo e DSC.

	Resultado do fornecedor*	Equipamento DSC	Equipamento bloco metálico aquecido**	Equipamento Mettler Toledo FP90**
SQR	195,2 - 196,6 °C	197,89 - 199,74 °C	199 - 203 °C	196,5 - 198,1 °C
			198 - 202 °C	197,1 - 198,3 °C
			199 - 203 °C	196,8 - 198,8 °C
SIB1	192,5 - 195,8 °C	198,37 - 200,20 °C	198 - 202 °C	196,3 - 197,9 °C
			199 - 203 °C	195,7 - 198,4 °C
			198 - 201 °C	195,9 - 198,1 °C

* Resultado indicado no certificado de análise emitido pelo fornecedor da matéria-prima.

** Valores corrigidos em relação a uma substância padrão de ponto de fusão.

Os resultados obtidos pelo equipamento Mettler Toledo e bloco metálico aquecido apresentaram uma pequena diferença de 1 a 4 °C. Ainda assim, em ambos os casos, as faixas de fusão variaram ± 2 °C em relação ao valor obtido por DSC, considerado o mais correto.

As faixas de fusão apresentaram diferença em relação à indicação na literatura, correspondente a uma faixa de 193 a 195,5 °C (BUDAVARI, 2001). Na avaliação, é importante considerar que a SQR e a amostra SIB1 foram sintetizadas na Índia e na China, respectivamente. Enquanto a especificação da faixa de fusão indicada por BUDAVARI (2001), provavelmente, corresponde à molécula sintetizada pela indústria Abbott, detentora da patente do cloridrato de sibutramina monoidratado até o ano de 2006. Assim, alguns fatores podem ser responsáveis pela diferença em relação àquela especificação.

As discrepâncias podem ser devido a diferentes formas polimórficas da molécula, produzidas na etapa de cristalização ou até mesmo durante o transporte e armazenamento. A forma polimórfica mais estável, ou seja, com menor energia livre, possui um ponto (ou faixa) de fusão maior (AULTON *et al*, 2005). Portanto, é possível que a estrutura cristalina das moléculas correspondentes à SQR e à SIB1 seja a mais estável. Para confirmar essa hipótese seria necessário dispor de uma amostra de matéria-prima sintetizada pela Abbott e realizar os ensaios pertinentes para a avaliação de polimorfismo.

A presença de impurezas em grande quantidade também poderia justificar as diferenças entre as faixas de fusão obtidas. Entretanto, esta possibilidade foi desconsiderada, pois as análises por outras técnicas quali e quantitativas comprovaram a identidade química e a pureza da SQR e da SIB1.

Apesar disso, os resultados apresentados nos certificados de análise emitidos pelos fabricantes de SQR e SIB1 foram diferentes dos obtidos neste trabalho. A diferença pode estar relacionada com o tipo de equipamento, velocidade de aquecimento e na utilização ou não de substância padrão para a correção da faixa de temperatura observada.

Após a fusão do fármaco, observou-se a formação de um produto de coloração amarelada. Através da observação no equipamento de bloco metálico aquecido, verificou-se que a ebulição ocorreu logo após a fusão das amostras. A faixa de ebulição ocorreu entre 210 e 212 °C.

5.2.5 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica em que as diferenças no fluxo de calor na amostra e na referência são medidas como função da temperatura da amostra enquanto as duas são submetidas a um programa de temperatura controlada. Dessa forma, é determinada a entalpia envolvida em transições endotérmicas ou exotérmicas (SKOOG *et al*, 2002). Esse método térmico fornece informações úteis para avaliação do comportamento de fármacos, tais como: formação do cristal, polimorfismo, temperatura de fusão, sublimação, desidratação, evaporação e pureza (ARMIJO *et al*, 2004; SUITCHMEZIAN *et al*, 2007; USP 30, 2007).

Os parâmetros experimentais influem nos resultados das análises por DSC. Então, devem ser citadas as informações referentes à massa de amostra, material do porta-amostra, vazão e natureza do gás de arraste e velocidade de aquecimento (ARMIJO *et al*, 2004; BERNAL *et al*, 2002).

Observaram-se dois perfis distintos entre os termogramas obtidos para a SQR e para as amostras SIB1, SIB2 e SIB3, respectivamente. Verificou-se que a SQR e SIB1 (Figura 3) apresentaram um comportamento térmico semelhante, enquanto SIB2 e SIB3 (Figura 4) apresentaram outro perfil.

Os termogramas referentes à SQR e à SIB1 apresentaram três eventos endotérmicos principais. O primeiro evento, com a forma larga, corresponde à perda de água de hidratação, o segundo à fusão e o terceiro à volatilização. No final do último evento há, aparentemente, a sobreposição de outro evento, ocasionando o alargamento do pico. Para verificar se isso é devido à degradação térmica da amostra, realizou-se outro teste por DSC, com alteração dos parâmetros do Quadro

7 (p. 38). Aumentando a velocidade de aquecimento para 40 °C/min e mantendo-se os demais parâmetros do método original, obteve-se um termograma com todos os eventos deslocados para uma temperatura maior, além do alargamento da forma dos picos (Figura 3). Não foram verificados, porém, sinais de degradação com essas alterações. Então, a sobreposição de picos no final do termograma pode ser devido à diferença de temperatura entre a tampa e o fundo do porta-amostra, sendo a segunda maior que a primeira. Por isso, numa temperatura ligeiramente superior ao ponto de ebulição, pode haver condensação do material volatilizado na tampa do porta-amostra, o qual sofre ebulição novamente em temperatura mais elevada.

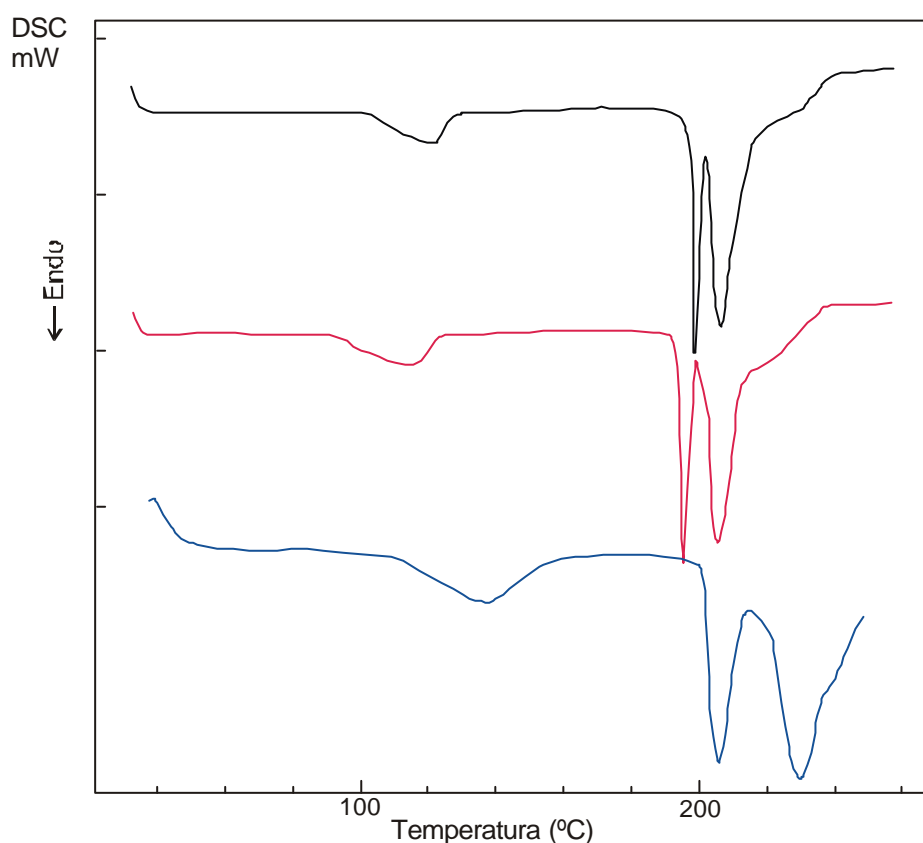


Figura 3. Termogramas obtidos para: SQR (preto) e SIB1 (vermelho), de acordo com as condições analíticas descritas para a técnica de DSC no Quadro 7 (p. 38); SIB1 (azul) com velocidade de aquecimento 40 °C/min e demais condições mantidas.

O primeiro e o segundo eventos ocorreram em temperaturas similares nas quatro amostras. Entretanto, os termogramas para SIB2 e SIB3 apresentaram eventos endotérmicos adicionais em relação à SQR e à SIB1. O segundo e o terceiro eventos de SIB2 e SIB3 podem ser devido à fusão de uma forma polimórfica I, seguida de cristalização e fusão de uma forma polimórfica II, respectivamente. Esses casos podem ser justificados quando há polimorfismo da molécula ou pseudo-polimorfismo devido à água de hidratação. No último caso, partículas de tamanhos maiores influem negativamente na remoção da água da rede cristalina, o que pode contribuir para a existência de dois eventos de fusão, sendo um na forma anidra e outro na forma hidratada. Posteriormente a esses processos, ocorreu outro evento, que, provavelmente, corresponde à ebulição. O final desse evento, como justificado para SQR e SIB1, pode ser devido à condensação e posterior ebulição.

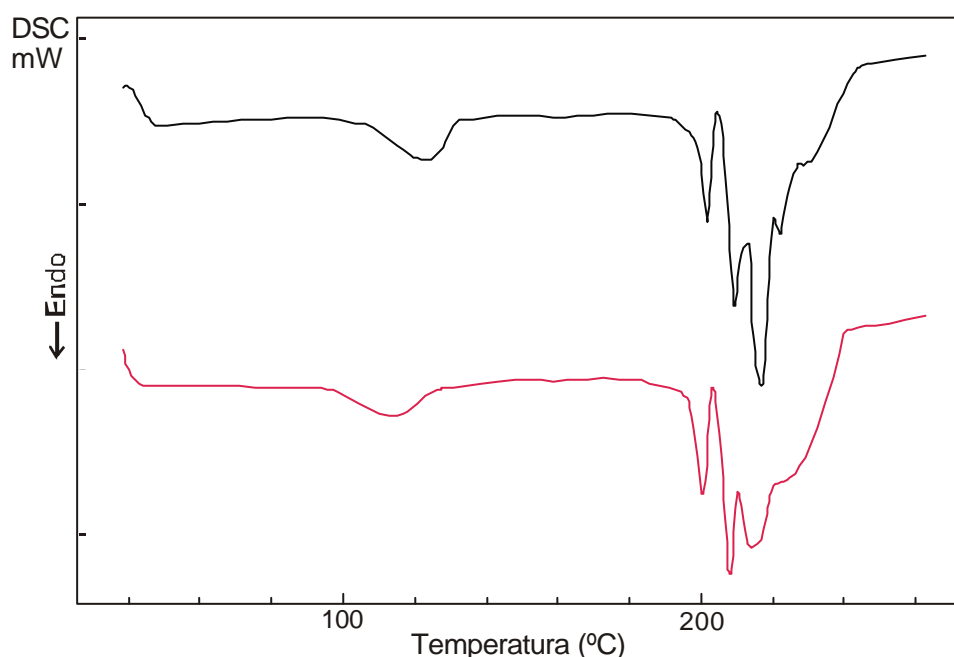


Figura 4. Termogramas obtidos para: SIB2 (preto) e SIB3 (vermelho), de acordo com as condições analíticas descritas para a técnica de DSC no Quadro 7 (p. 38).

Para averiguar a existência de polimorfos, realizou-se uma análise com os parâmetros originais (Quadro 7, p. 38), sendo a amostra resfriada e aquecida novamente nas mesmas condições e não se obteve termograma. A razão para tal fato é que a amostra foi aquecida até 250 °C, temperatura muito superior ao seu ponto de ebulição, sendo assim eliminada através dos orifícios do porta-amostra, logo após o primeiro aquecimento.

Os dados obtidos pela técnica de DSC para a SQR e amostras são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Dados obtidos pela técnica de DSC para SQR e amostras SIB1, SIB2 e SIB3.

Amostra (massa, gramas)	1º EVENTO			2º EVENTO			3º EVENTO			4º EVENTO		
	Onset (°C)	Peak (°C)	Heat ⁺ (-J/g)	Onset (°C)	Peak (°C)	Heat ⁺ (-J/g)	Onset (°C)	Peak (°C)	Heat ⁺ (-J/g)	Onset (°C)	Peak (°C)	Heat ⁺ (- J/g)
SQR* (1,30)	95,7	115,66	88,40	197,89	199,74	75,59	203,52	207,40	156,58	-	-	-
SIB1* (1,81)	95,99	118,42	95,67	198,37	200,20	82,91	205,53	210,31	177,11	-	-	-
SIB1** (1,84)	110,59	136,56	86,98	201,02	205,81	89,83	219,21	230,37	165,73	-	-	-
SIB2* (1,51)	101,76	118,79	72,40	196,54	198,99	43,69	202,93	206,74	33,91	211,41	214,12	-
SIB3* (1,13)	96,14	113,29	68,68	196,55	199,48	41,00	202,98	206,95	37,08	208,65	212,94	-

* Técnica conforme parâmetros descritos no Quadro 7 (p. 38).

** Técnica com velocidade de aquecimento de 40 °C/min e demais parâmetros conforme descritos no Quadro 7 (p. 38).

⁺ Calculado em relação à área entre vale e pico.

Testes adicionais, como microscopia e difração de raios-X, variações das condições de DSC e TGA acoplada a equipamento para a identificação de gases, como espectrofotômetro na região do infravermelho ou espectrômetro de massas, podem ser úteis para confirmar a hipótese de polimorfismo para este fármaco.

Também podem ser realizados estudos de cinética de degradação térmica e, se for confirmada, proceder a caracterização física e química dos produtos obtidos.

5.2.6 Termogravimetria (TGA)

A análise termogravimétrica (TGA) consiste em medir a variação de massa de uma amostra em função da temperatura, sob uma atmosfera controlada. A informação obtida por esse método é mais limitada, porém mais específica, que a obtida por DSC porque uma variação de temperatura deve provocar uma alteração na massa da substância (SKOOG *et al*, 2005). As principais aplicações dessa técnica na área farmacêutica, quando em atmosfera inerte, são para a avaliação da estabilidade térmica de fármacos, do processo de volatilização e do teor de água na molécula (ARMIJO *et al*, 2004; USP 30, 2007).

As curvas termogravimétricas obtidas para a SQR, a SIB1, a SIB2 e a SIB3 apresentaram duas perdas de massa e são apresentadas nas Figuras 5, 6, 7 e 8, respectivamente. Entretanto, as temperaturas de cada evento variaram entre algumas amostras e uma comparação desses valores é apresentada na Tabela 6.

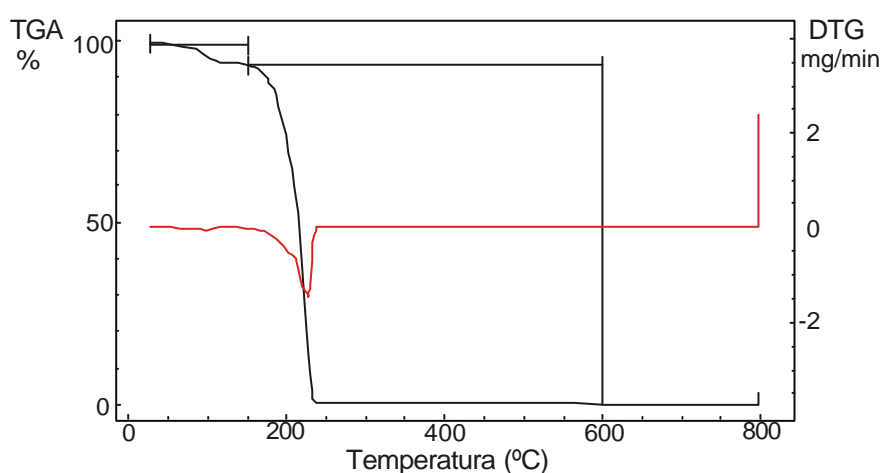


Figura 5. Curva termogravimétrica da SQR obtida nas condições descritas no item 4.2.6 (p. 39). TGA (preto) e DTG (vermelho).

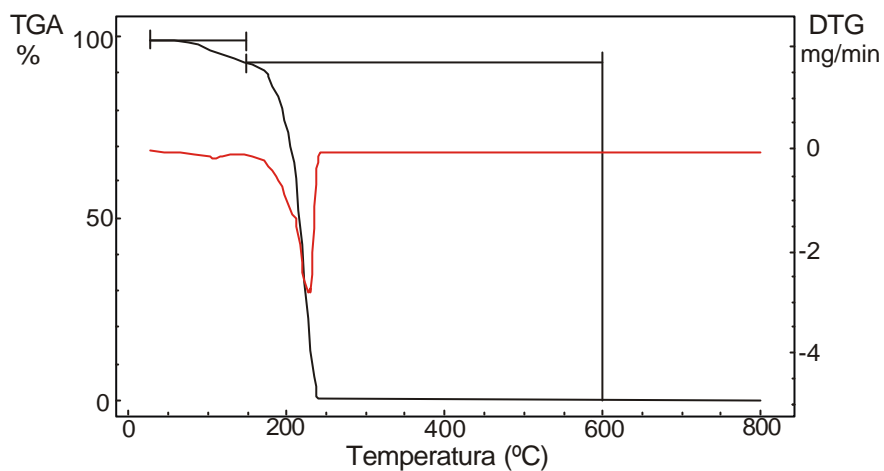


Figura 6. Curva termogravimétrica da SIB1 obtida nas condições descritas no item 4.2.6 (p. 39). TGA (preto) e DTG (vermelho).

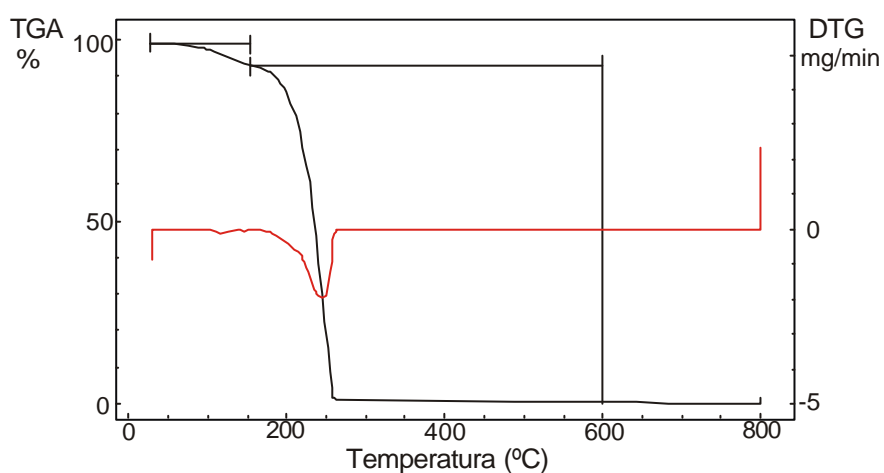


Figura 7. Curva termogravimétrica da SIB2 obtida nas condições descritas no item 4.2.6 (p. 39). TGA (preto) e DTG (vermelho).

O primeiro evento existente nas curvas obtidas para SQR e amostras SIB1, SIB2 e SIB3, corresponde, provavelmente, à perda da água de hidratação da molécula do fármaco, a qual possui uma especificação de teor entre 5 e 6%. Comparações desses valores com os obtidos pelos métodos de Karl-Fischer e perda

por dessecação para a determinação do teor de água são apresentadas nos itens 5.2.13.1 e 5.2.13.2 (p. 81 e 83, respectivamente).

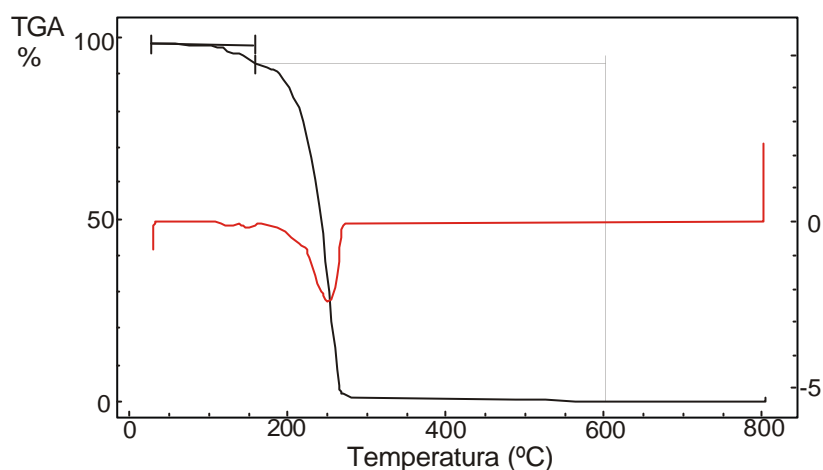


Figura 8. Curva termogravimétrica da SIB3 obtida nas condições descritas no item 4.2.6 (p. 39). TGA (preto) e DTG (vermelho).

Tabela 6. Dados obtidos pela técnica de TGA para SQR e amostras SIB1, SIB2 e SIB3.

Amostra (massa, gramas)	1º EVENTO			2º EVENTO		
	Onset (°C)	Endset (°C)	Perda (%)	Onset (°C)	Endset (°C)	Perda (%)
SQR (4,13)	90,19	90,50	6,01	206,56	234,04	93,99
SIB1 (4,54)	77,99	114,75	5,86	206,51	238,31	93,19
SIB2 (8,50)	96,28	124,92	5,87	219,07	254,27	93,64
SIB3 (10,68)	121,35	149,26	5,46	222,70	258,00	94,55

Para a SQR e todas as amostras, foi constatada uma perda de massa quase total no segundo evento observado na curva obtida por TGA. Essa alteração é correspondente à volatilização, o que também foi verificado na análise por DSC. As duas perdas totalizam quase 100% para todas as amostras, o que indica que não há decomposição térmica do fármaco.

5.2.7 Reação para cloretos

Fármacos na forma de cloridrato reagem com AgNO_3 0,1 M, em meio acidificado com HNO_3 1%, formando um precipitado branco caseoso. O precipitado é insolúvel em ácido nítrico e solúvel em hidróxido de amônio 6 M (F. Bras. IV, 1988; KOROLKOVAS, 1988; USP 30, 2007).

Para a maioria das moléculas o ensaio é bastante simples, constando apenas da adição das soluções mencionadas. No entanto, o cloridrato de sibutramina, um sal de amina, não respondeu ao teste usual. Nesse caso é recomendada uma etapa adicional de centrifugação após a formação do precipitado (USP 30, 2007).

Realizou-se uma adaptação dessa técnica para determinação de cloretos (USP 30, 2007), mediante alteração da centrifugação por uma filtração e coleta do precipitado. Optou-se por essa troca para evitar a necessidade de uma centrífuga, equipamento geralmente indisponível em farmácias.

O ensaio foi realizado com a SQR e com a amostra SIB1 do cloridrato de sibutramina monoidratado. Em ambos os casos, o analito reagiu com o AgNO_3 e produziu um precipitado branco. O precipitado formado foi insolúvel em HNO_3 1% e solúvel em NH_4OH 6 M, confirmando a presença de cloretos nas amostras.

5.2.8 Reação para aminas terciárias

A análise química para aminas terciárias é mais complexa que para aminas primárias e secundárias, devido à ausência de hidrogênios substituíveis ligados ao

átomo de nitrogênio nas primeiras. Aminas terciárias reagem, sob aquecimento, com ácidos policarboxílicos e anidrido acético formando compostos cromogênicos (CONNORS e IFAN, 1987; FEIGL, 1960).

O teste descrito por Feigl-Ohkuma, com adição de uma solução contendo ácido cítrico 2% em anidrido acético, caracteriza as aminas terciárias alifáticas. A positividade é confirmada através do desenvolvimento de cor vermelha que passa a castanho (CHERONIS *et al*, 1965; EGER *et al*, 1999).

A seletividade do ensaio para a identificação de aminas terciárias foi avaliada mediante testes com uma amina primária (etilamina), uma amina secundária (cloridrato de fluoxetina) e uma amina terciária (trietilamina). As respectivas moléculas são apresentadas na Figura 9.

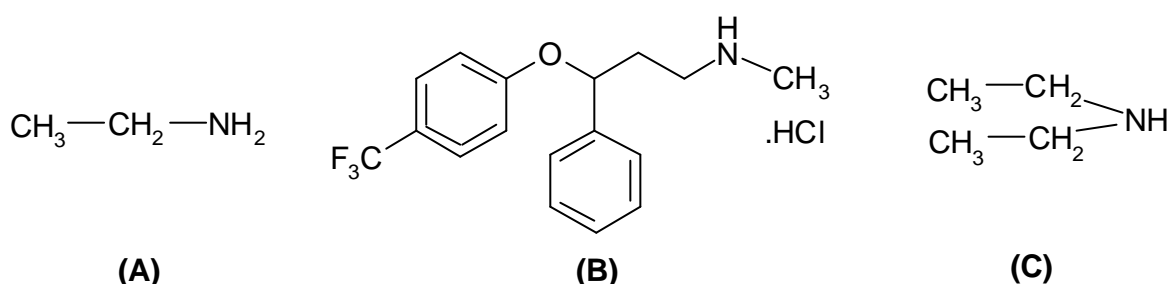


Figura 9. Estruturas químicas correspondentes a: etilamina (A), cloridrato de fluoxetina (B) e trietilamina (C).

As reações realizadas para a amina primária e para a amina secundária não formaram a coloração vermelha. A SQR, a SIB1, o conteúdo das cápsulas (CAP) e a trietilamina apresentaram resultado positivo para a reação de Feigl-Ohkuma, que pode ser considerada adequada e seletiva para a identificação da amina terciária presente na molécula do cloridrato de sibutramina (matéria-prima e cápsulas), podendo ser aplicada em farmácias magistrais.

5.2.9 Rotação óptica específica

A determinação da rotação óptica permite estabelecer a identidade, a pureza e, às vezes, indica o valor terapêutico da substância. As substâncias que desviam o plano da luz polarizada são ditas opticamente ativas, podendo ser classificadas em dextrógiras (+) ou levógiras (-) (F. Bras. IV, 1988).

Geralmente, um dos enantiômeros de um fármaco quiral é mais ativo do que o outro. Contudo, apenas em casos em que um dos enantiômeros é tóxico ou possui efeitos colaterais importantes o enantiômero isolado é usado. A principal razão para isto é o elevado custo para o isolamento de um enantiômero de uma mistura racêmica (MOORE *et al*, 1999; WATSON, 2005).

A molécula do cloridrato de sibutramina apresenta um centro quiral (Figura 1) e é comercializada na forma de mistura racêmica, ou seja, na proporção 1:1 de cada enantiômero (ABBOTT, 2006 b; MEDLEY, 2006). Conseqüentemente, conforme o esperado, a rotação óptica específica foi próxima a zero. As médias dos resultados obtidos na determinação da rotação óptica da amostra analisada e SQR são apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7. Média de três determinações do poder rotatório específico para soluções etanólicas a 1% de SQR e amostra SIB1.

	SQR	SIB1
Média (%)	+0,67	+0,30

5.2.10 Cromatografia em camada delgada (CCD)

A técnica por CCD permite a separação de impurezas da amostra, bem como sua identificação em comparação com uma substância de referência (COLLINS, 1997).

A análise por CCD requer materiais simples e pode ser utilizada em farmácias magistrais. Por este motivo, no desenvolvimento da técnica de identificação do cloridrato de sibutramina por CCD, priorizou-se o uso de reagentes disponíveis nas farmácias e que não sejam insalubres (BRASIL, 1978).

Diversas condições cromatográficas foram testadas. O método mais adequado está descrito no item 4.2.9 (p. 41).

Como substâncias de comparação, foram testadas algumas aminas alifáticas com estrutura semelhante à sibutramina. No sistema cromatográfico selecionado, o cloridrato de diltiazem (Figura 10) apresentou um melhor perfil.

Diferentes proporções de solventes foram avaliadas para constituir a fase móvel, tais como: metanol, etanol, acetona e acetato de etila. Entre essas, escolheu-se o etanol puro, pois nesse solvente a migração da substância foi satisfatória. A revelação das manchas foi possível tanto por vapores de iodo quanto por lâmpada UV 254 nm. Na Figura 11 são representadas as placas cromatográficas obtidas, com análises simultâneas da SQR, da amostra SIB1, conteúdo de CAP, bem como da substância de comparação cloridrato de diltiazem.

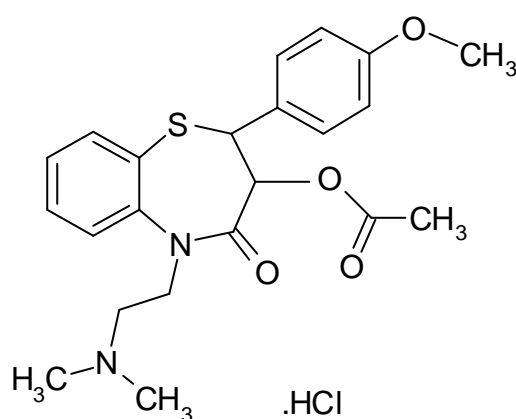


Figura 10. Estrutura química do cloridrato de diltiazem.

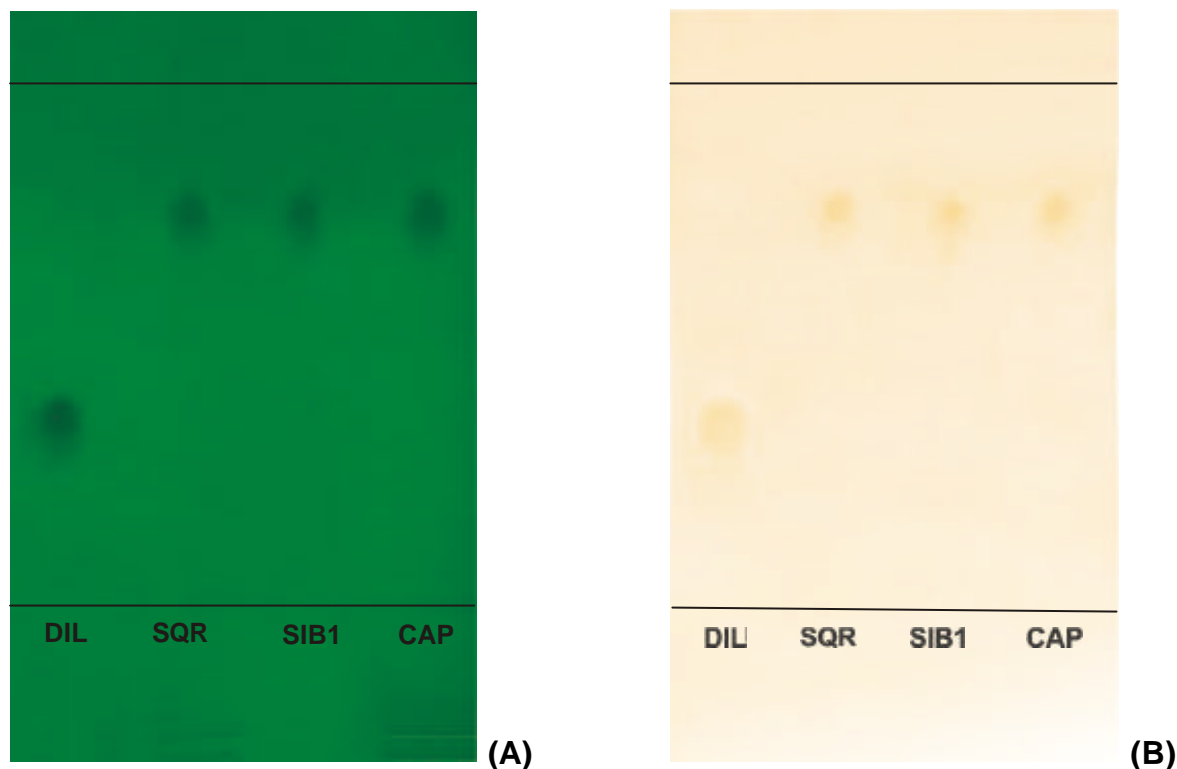


Figura 11. Placa cromatográfica obtida por CCD para a substância de referência cloridrato de diltiazem (DIL), SQR, amostra SIB1 e CAP. Fase estacionária: cromatoplasas de gel de sílica GF 254 Merck. Fase móvel: etanol P.A. Revelação: lâmpada UV 254 nm (A) e vapores de iodo (B).

Os valores de R_f corresponderam a $0,73 \pm 0,015$ para SQR e amostras SIB1 e CAP, enquanto para o cloridrato de diltiazem esse foi de $0,34 \pm 0,01$. Assim, para SQR, SIB1, e CAP o R_x calculado foi de $2,15 \pm 0,11$.

Verificaram-se perfis cromatográficos semelhantes entre SQR, amostras SIB1 e CAP, o que indica que elas contêm a mesma molécula. O método foi capaz de diferenciar o cloridrato de sibutramina da substância de comparação cloridrato de diltiazem, um sal de amina alifática terciária. Portanto, o método foi considerado seletivo em relação ao fármaco em análise.

5.2.11 Espectroscopia na região do infravermelho (IV)

Esse método é capaz de identificar moléculas orgânicas complexas, com elevada especificidade, exceto para isômeros ópticos. Pequenas impurezas não interferem significativamente no espectro, mas algumas características como polimorfismo, variação e tamanho dos cristais e formação de hidratos, podem originar diferenças (F. Bras. IV, 1988; SILVERSTEIN, 2000; WATSON, 2005).

Os espectros de absorção na região do infravermelho obtidos para a SQR e SIB1 (Figura 12) apresentaram as mesmas bandas. A análise realizada para SIB2 e SIB3 também resultou em espectros semelhantes. Portanto, concluiu-se que a SQR e as amostras avaliadas possuem a mesma identidade química.

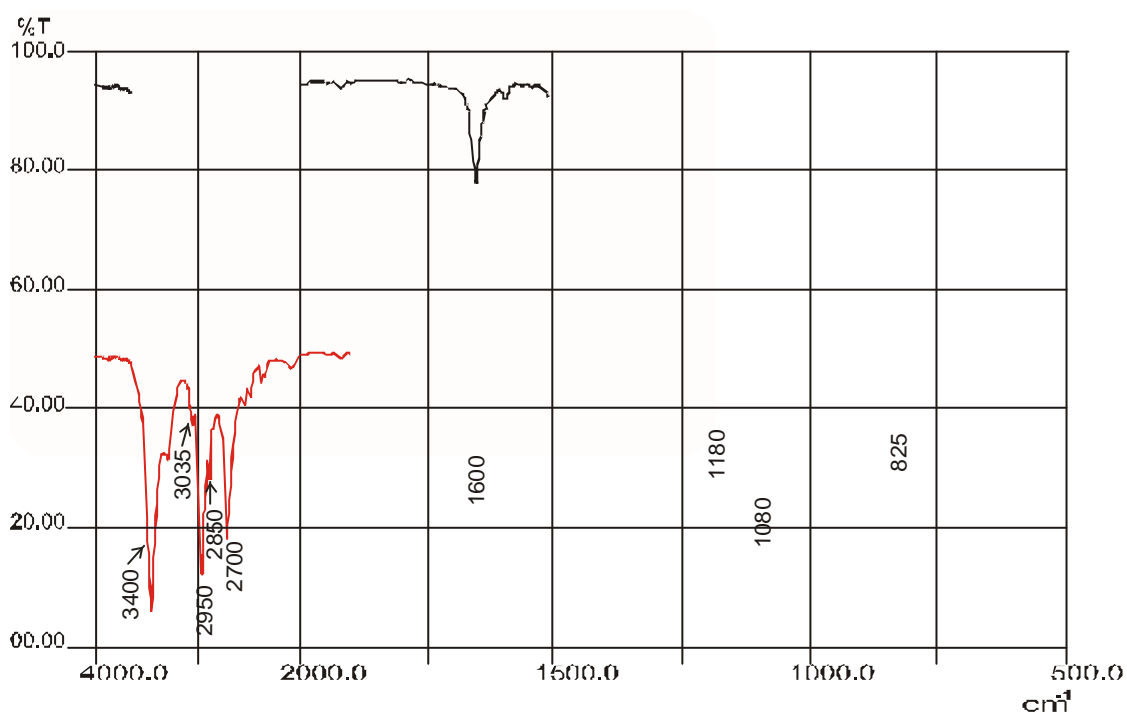


Figura 12. Espectros de infravermelho obtidos para o cloridrato de sibutramina monoidratado: SQR (preto) e SIB1 (vermelho).

No Quadro 13, são apresentadas as atribuições às principais bandas do espectro que caracterizam a molécula.

Realizou-se a análise com a SQR dessecada e não dessecada. A substância dessecada apresentou um espectro com menor ruído. Entretanto, mediante comparação dos espectros obtidos para essas formas, não houve diferenças na posição das bandas características de grupamentos, referidas no Quadro 13. Assim, a água de hidratação da molécula não interfere na sua identificação, desde que sejam comparados os espectros de padrão e amostra na mesma condição (dessecada ou não dessecada).

Quadro 13. Atribuições às principais bandas do espectro de infravermelho para o cloridrato de sibutramina monoidratado (NAKANISHI e SOLOMON, 1977; SILVERSTEIN, 2000).

Número de Onda (cm ⁻¹)	Atribuição
3400	Deformação axial de N-H do sal de amina
3.035	Deformação axial de C-H em alquenos
2.950 a 2.850	Deformação axial de C-H em alcano e cicloalcano
2.700	Deformação axial de N-H do sal de amina
1.600 e 1490	Deformação axial de C=C do anel aromático
1.180	Deformação axial de C-N da amina
1.080	Deformação axial de C-Cl do clorobenzeno
825	Deformação angular C-H do anel aromático <i>para</i> -substituído

5.2.12 Espectroscopia na região do ultravioleta (UV)

Este método possibilita a identificação de moléculas com sistemas conjugados, porém, isoladamente, apresenta especificidade reduzida (KOROLKOVAS, 1988; SILVERSTEIN, 2000). Esse parâmetro depende dos grupos cromóforos presentes na molécula do fármaco (WATSON, 2005). Obtém-se mais segurança para identificação do fármaco através desse método mediante comparação entre os espectros obtidos para a amostra e substância de referência, além da realização de técnica alternativa, como uma reação de caracterização.

Os espectros obtidos foram satisfatórios nos três solventes avaliados (metanol, etanol e solução de ácido clorídrico 0,1 M) e nas concentrações de 10 e 20 µg/mL. Entre esses, optou-se por etanol, uma vez que esse solvente satisfaz as condições necessárias de completa solubilização do fármaco e não é insalubre em baixas quantidades (BRASIL, 1978). Na Figura 13 são apresentados os espectros obtidos com os três solventes testados. Na Figura 14 é realizada a comparação entre a SQR e a SIB1.

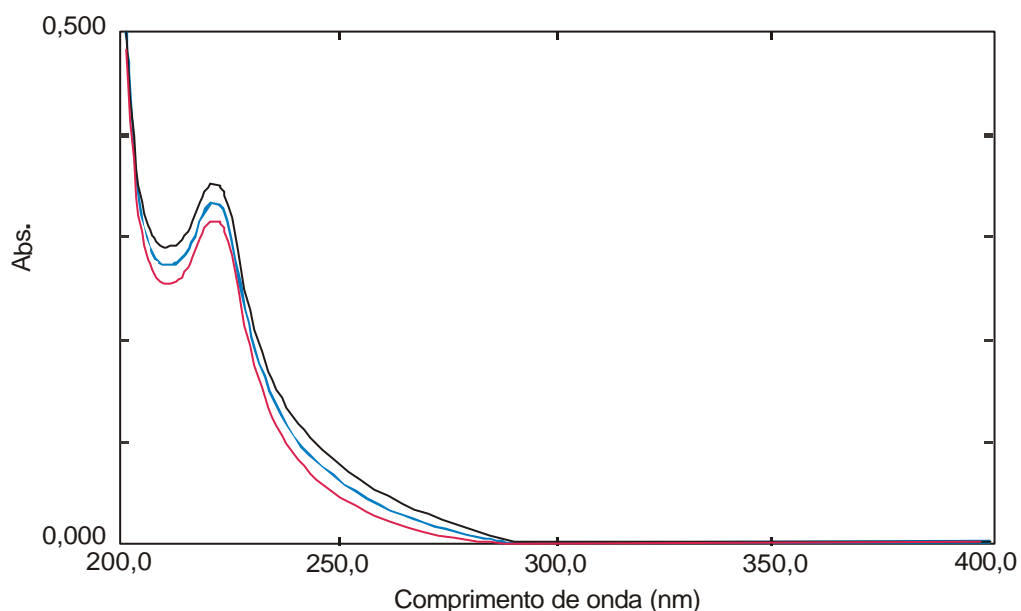


Figura 13. Espectros obtidos na região do ultravioleta para a SQR do cloridrato de sibutramina em solução, diluído nos solventes: ácido clorídrico 0,1 M (preto), metanol (azul) e etanol (vermelho).

Todos solventes resultaram em espectros idênticos e com o mesmo comprimento de onda de absorção máxima, ou seja, correspondente a 223 nm. Pode-se observar que os perfis dos espectros de SQR e SIB1 são semelhantes. Assim, confirmou-se a identidade da molécula.

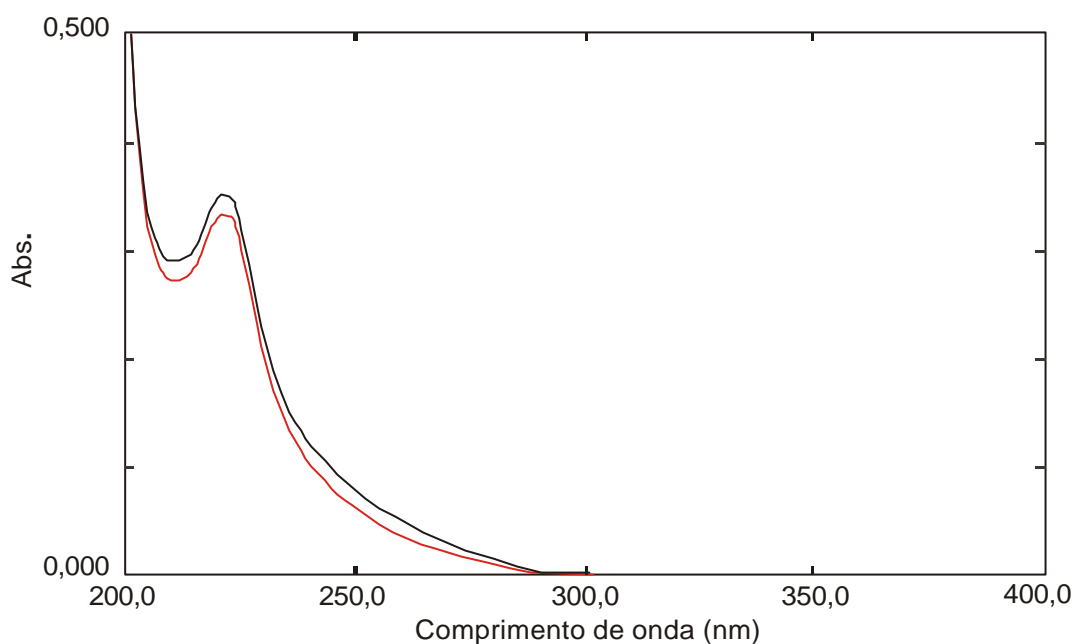


Figura 14. Espectros obtidos na região do ultravioleta para SQR e SIB1, em solução etanólica.

5.2.13 Aquametria

A determinação da umidade foi realizada por dois métodos, sendo também comparada com os resultados obtidos pelo TGA (item 5.2.6, p. 71).

5.2.13.1 Método volumétrico por Karl-Fischer

O método original por Karl-Fischer realiza uma titulação entre a água e uma solução anidra de iodo e dióxido de enxofre, dissolvida em metanol e piridina (F. Bras. IV, 1988). Entretanto, o último reagente apresenta odor forte e é tóxico (BRASIL, 1978). Assim, alguns equipamentos, como o DL 37 Mettler Toledo utilizado neste trabalho, requerem o uso de uma solução sem a piridina.

A massa de amostra pesada para a análise (30 mg) foi escolhida conforme a recomendação no manual do equipamento, descrita no Quadro 14 (ANEXO). Os

resultados obtidos em três dias diferentes são apresentados na Tabela 8. Os três dias de análise estão separados entre si por ao menos cinco meses.

Os DPR entre as análises realizadas em diferentes dias foram baixos, o que indica que, apesar de ser monoidratada, a molécula mantém estável o seu teor de água ao longo do tempo, quando acondicionada em condições adequadas.

Tabela 8. Resultados obtidos para a determinação da aquametria pelo método de Karl-Fischer, para SQR e SIB1, em três dias diferentes.

	SQR		SIB1	
	Média* (%)	DPR (%)	Média* (%)	DPR (%)
Dia 1	5,48	0,46	5,47	0,53
Intradias Dia 2	5,65	1,00	5,63	0,18
Dia 3	5,56	0,25	5,62	0,50
Entre dias	5,54	1,65	5,58	1,46

* Média de três determinações.

Os resultados obtidos foram conforme o esperado para a molécula monoidratada, ou seja, entre 5 e 6%. Os valores obtidos por esse método diferiram pouco em relação àqueles obtidos por TGA, ou seja, correspondente a 6,01% e 5,86% para SQR e SIB1, respectivamente. Apesar da semelhança nos resultados, sabe-se que o método de Karl-Fischer representa o método mais exato para a aquametria, já que é baseado na titulação da água, não envolvendo perdas de substâncias voláteis, como é possível nos métodos térmicos.

5.2.13.2 Método gravimétrico

Esse método é de realização simples e requer o uso de estufa, um equipamento freqüentemente disponível em farmácias magistrais. Contudo, esse método não é viável, se o fármaco apresentar termolabilidade (F. Bras. IV, 1988).

A F. Bras. IV (1988) recomenda que para amostras que se decompõem na temperatura indicada para a análise, pode-se realizar a secagem a vácuo, numa temperatura mais baixa. Entretanto, esse método não é viável para a maioria das farmácias magistrais, em virtude da ausência do equipamento necessário. Sendo assim, outras condições foram testadas. Os resultados obtidos em cada condição testada estão relatados na Tabela 9.

Tabela 9. Resultados obtidos para a determinação da aquametria pelo método gravimétrico, para SQR e SIB1, sob diferentes condições.

Condição	SQR		SIB1	
	Média (%)	DPR (%)	Média (%)	DPR (%)
120 °C por 3 horas**	10,21	-	11,9	-
110 °C por 2 horas*	6,10	6,11	7,51	5,27
105 °C por 1 hora*	5,93	1,32	5,68	0,99
105 °C por 2 horas*	6,27	1,83	5,88	2,16
105 °C por 3 horas*	6,41	4,36	6,03	6,95

* Média de três determinações.

** Uma determinação.

Considerando que o fármaco possui uma molécula de água de hidratação, esperava-se que fosse necessária uma temperatura superior a 105 °C para a

realização de perda por dessecação. Assim, foram avaliadas as temperaturas de 110 °C e 120 °C, por duas e três horas, respectivamente. A temperatura de 120 °C foi demasiadamente drástica para a amostra, havendo perda de massa superior a 6%. Nesse caso, houve perda de material volátil, provavelmente de um produto de degradação produzido em elevada temperatura, o que também foi evidenciado mediante análise de uma amostra por TGA (item 5.2.6, p. 70). A verificação na temperatura de 110 °C apresentou uma perda de massa menor que o método anterior, mas acima de 6%. Por isso, ambos os métodos foram considerados inadequados.

Assim, testou-se o método com a temperatura de 105 °C, por uma, duas e três horas. Observou-se uma perda de massa crescente a cada hora, ultrapassando o limite máximo de 6% após duas horas para SQR e três horas para SIB1.

Além disso, em ensaios realizados a 105 °C por duas horas com outras amostras do fármaco, porém não utilizadas no presente trabalho, a perda por dessecação foi inferior a 5%. Sabe-se que a perda de água está relacionada à estrutura polimórfica da molécula e, conforme demonstrado no item 5.2.5 (p. 66), é possível que as amostras de cloridrato de sibutramina analisadas apresentem polimorfismo. Frente a isso, diferentes formas polimórficas de uma mesma molécula podem perder a sua água de hidratação em temperaturas, que diferem entre si em alguns graus Celsius.

No entanto, se forem seguidos alguns cuidados, pode-se realizar a perda por dessecação na temperatura de 105 °C em farmácias magistrais. Dessa forma, sugere-se que a perda por dessecação seja realizada nessa temperatura por uma hora. Se houver perda de massa inferior à faixa de especificação, deve-se repetir o procedimento por mais uma hora, totalizando duas horas.

Ademais, considerando-se a complexidade e o erro inerente ao método gravimétrico para a determinação de um valor exato para o teor de água, pode-se estabelecer uma especificação de pureza entre 98 e 102% do fármaco.

5.3 ANÁLISE QUANTITATIVA

A análise quantitativa é realizada para determinar o teor do analito em uma amostra. Para o doseamento de fármacos em amostras de matéria-prima ou produto acabado, o procedimento analítico empregado deve ser adequadamente validado (ICH, 2005).

Para possibilitar a realização de doseamento do fármaco em farmácias magistrais, foi desenvolvido um método por volumetria em meio não-aquoso (VMNA). A avaliação da exatidão desse método foi por uma comparação com um segundo método (CLAE), o qual foi validado de acordo com a legislação brasileira (BRASIL, 2003 b) e com o ICH (2005).

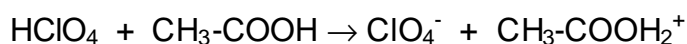
5.3.1 Volumetria em meio não-aquoso (VMNA)

A VMNA é amplamente recomendada em monografias farmacopéicas para o doseamento de fármacos (BP 2007; BUVÁRI-BARCZA e BARCZA, 2005; F. Bras. IV, 1988; F. Bras. IV, 2006; Ph. Eur., 2005; USP 30, 2007). Além disso, essa técnica é rápida, exata e requer aparelhagem simples. Sendo assim, é o método de escolha por muitos laboratórios, inclusive aqueles de controle de qualidade em farmácias magistrais.

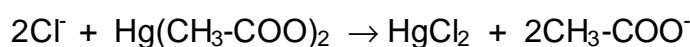
A técnica por VMNA é utilizada para quantificar fármacos que sejam ácidos ou bases fracas, abrangendo, entre as últimas, alguns sais de aminas (F. Bras. IV, 1988; KOROLKOVAS, 1988; WATSON, 2005). Quimicamente, o cloridrato de sibutramina é classificado como um sal de amina terciária (Figura 1, p.18), sendo, portanto, possível o seu doseamento por VMNA.

Nos cloridratos de aminas, é usual a titulação com o ácido perclórico diluído em ácido acético glacial (Esquema 2). O ânion cloreto do fármaco, porém, é uma base extremamente fraca para reagir quantitativamente com o ácido perclórico em ácido acético. Conseqüentemente, para o doseamento por VMNA desses fármacos, as farmacopéias preconizam a adição de acetato mercúrico (F. Bras. IV, 1988; USP

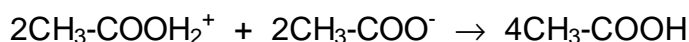
30, 2007). Dessa forma, o ânion cloreto é quantitativamente substituído pelo acetato produzido (Esquema 3), sendo o último uma base forte em solução de ácido acético e passível de reação quantitativa com o titulante (Esquema 4).



Esquema 2



Esquema 3



Esquema 4

Entretanto, o acetato mercúrico é um produto insalubre em grau máximo (BRASIL, 1978), por conter um metal pesado de elevada toxicidade (BRASIL, 2004; BUVÁRI-BARCZA e BARCZA, 2005). Considerando a repercussão do uso desse reagente quanto aos aspectos trabalhistas e ambientais, é primordial que os laboratórios priorizem o uso de técnicas analíticas com química limpa (LENARDÃO *et al*, 2003; PRADO, 2003).

Atualmente, como alternativa ao uso do acetato mercúrico, a Farmacopéia Japonesa e algumas referências na literatura sugeriram o uso de uma mistura de anidrido acético e ácido acético glacial (BUVÁRI-BARCZA e BARCZA, 2005). Nesses casos, os resíduos formados são constituídos de ácido acético glacial, o qual é mais facilmente descartado, além de não apresentar insalubridade (BRASIL, 1978; BRASIL, 2004).

Por outro lado, o excesso de anidrido acético pode acilar as aminas primárias ou secundárias, obtendo-se uma baixa recuperação (KOROLKOVAS, 1988). No entanto, para o cloridrato de sibutramina monoidratado, um sal de amina terciária, não há este risco (BUVÁRI-BARCZA e BARCZA, 2005).

O ácido acético glacial apresenta variação do volume, em função do coeficiente de dilatação temperatura dependente. A temperatura durante a realização das análises variou entre 18 e 23 °C. Portanto, efetuou-se a correção do volume de titulante gasto na bureta através da equação 3 (F. Bras. IV, 1988).

Equação 3
$$V_c = V_g \cdot [1 + (t_1 - t_2) \cdot 0,0011]$$

Onde:

V_c = volume corrigido;

V_g = volume gasto na bureta, descontando o volume gasto no ensaio em branco;

t_1 = temperatura ambiente no momento da padronização do titulante;

t_2 = temperatura ambiente no momento da titulação da amostra;

0,0011 = coeficiente de expansão cúbica do ácido acético glacial.

Considerando o problema da geração de resíduo tóxico, compararam-se os métodos com o uso de acetato mercúrico (métodos 1, 2 e 3) e anidrido acético (métodos 4, 5 e 6), frente a diferentes indicadores de ponto final. Os resultados obtidos para cada método estão apresentados na Tabela 10.

Os DPR obtidos para os seis métodos foram inferiores a 1%. Assim, os resultados dos métodos 1 a 6 são considerados reprodutíveis.

A comparação estatística entre esses resultados foi realizada considerando os diferentes números de repetições e está apresentada no Tabela 19 do ANEXO. Não houve diferença significativa entre os resultados obtidos pelos seis métodos ($F_{cal} < F_{tab}$), sendo eles intercambiáveis. Assim, recomenda-se preferentemente os métodos 4 e 5. Afinal, esses últimos não requerem reagentes tóxicos, como nos métodos 1 a 3, nem potenciômetro, como no método 6. A análise de variância (ANOVA) entre os métodos 4 e 5 e o método por CLAE é apresentada no item 5.4 (p. 102).

Tabela 10. Comparação dos teores de SIB1 obtidos através de diferentes métodos de VMNA, calculados em relação à substância seca.

n	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	Método 5	Método 6
1	98,91	99,43	98,44	98,36	99,00	99,00
2	98,96	99,44	98,55	99,24	99,42	99,39
3	99,06	99,61	98,97	99,61	99,67	99,90
4	99,74	99,78	99,72	99,78	100,43	100,09
5	99,77	100,45	100,16	100,64	100,58	100,64
6	-	-	-	-	-	100,70
7	-	-	-	-	-	101,04
8	-	-	-	-	-	101,06
Média (%)	99,29	99,74	99,17	99,53	99,82	100,23
DPR (%)	0,43	0,42	0,75	0,83	0,67	0,53

5.3.2 Cromatografia líquida de alta eficiência

A técnica por CLAE constitui um processo de separação, identificação e doseamento dos constituintes de uma amostra; é uma técnica amplamente empregada para a quantificação de fármacos puros e em formulações (BP 2007; F.

Bras. IV, 1996; KAZAKEVICH e LOBRUTTO, 2007; Ph. Eur., 2005; USP 30, 2007; WATSON, 2005).

Na literatura, já existem alguns métodos por CLAE validados para o doseamento do cloridrato de sibutramina monoidratado em matrizes biológicas, matéria-prima e cápsulas, conforme descritos nos itens 3.3.4 e 3.3.5 (p. 28 e 30, respectivamente) (CHEN *et al*, 2002; DING *et al*, 2003; HIND *et al*, 1999; RADHAKRISHNA, 2000; SEGAL *et al*, 2003; XIAO, 2005). O desenvolvimento do método por CLAE utilizado no presente trabalho teve como base aqueles métodos. Priorizou-se o uso de uma fase móvel sem tampão. Apesar do teor de silanóis livres na coluna utilizada ser baixo, preferiu-se o uso de trietilamina na composição da fase móvel para uma melhora na assimetria dos picos cromatográficos. Isso é justificado devido ao fato da molécula do fármaco ser uma amina que pode ficar adsorvida aos grupamentos silanóis livres presentes na coluna de fase reversa, ocasionado o alargamento do pico. Com a adição de trietilamina, os grupamentos silanóis interagem preferentemente com ela e há otimização dos parâmetros do sistema (KAZAKEVICH e LOBRUTTO, 2007).

Primeiramente, procurou-se adaptar o método descrito por SEGAL e colaboradores (2003). Nesse, utilizou-se fase móvel contendo metanol e água (80:20 V/V), adicionada de 0,3% de trietilamina, com pH 4,5 e uma coluna C₁₈. No entanto, o cromatograma obtido por este método apresentou um pico com assimetria de aproximadamente 2,0, considerada inadequada para as análises (FDA, 1994). Da mesma forma, outros ensaios realizados com metanol na fase móvel, com diferentes colunas C₁₈ não apresentaram resultados satisfatórios.

Testaram-se, também, diferentes pH da água para o preparo da fase móvel, sendo eles: 3,0; 4,5; 7,0. Os melhores parâmetros foram obtidos com o pH 7,0. Isso pode ser justificado em função do pKa estimado para o fármaco em estudo, que é de 9,6 de acordo com o aplicativo ALOGPS 2.1 (VCCLAB, 2007). Então, em pH 7,0 o fármaco está quase 100% ionizado, satisfazendo a condição desejável quanto à predominância de uma das formas de ionização (KAZAKEVICH e LOBRUTTO, 2007; WATSON, 2005).

Posteriormente, testou-se um método adaptado de RADHAKRISHNA e colaboradores (2000), mediante o uso de uma fase móvel contendo acetonitrila e água (75:25 V/V), com pH 7,0, fluxo 2,0 mL/min e uma coluna C₁₈. Esse ensaio, porém, resultou em um cromatograma com um pico com retenção de 22 minutos. Esse tempo é demasiadamente longo para a realização de análises de rotina.

Assim, obteve-se êxito mediante a troca da coluna citada no último método por uma C₈ e mantendo-se as demais condições descritas no Quadro 10 (p. 47). Para o doseamento da matéria-prima e na forma de cápsulas (CAP), obteve-se cromatogramas com pico com retenção de aproximadamente 7,8 minutos, conforme apresentado na Figura 15. Os parâmetros cromatográficos para o pico correspondente ao fármaco, pelo método desenvolvido por CLAE, estão em conformidade com aqueles preconizados pelo FDA (1994) e são apresentados na Tabela 11.

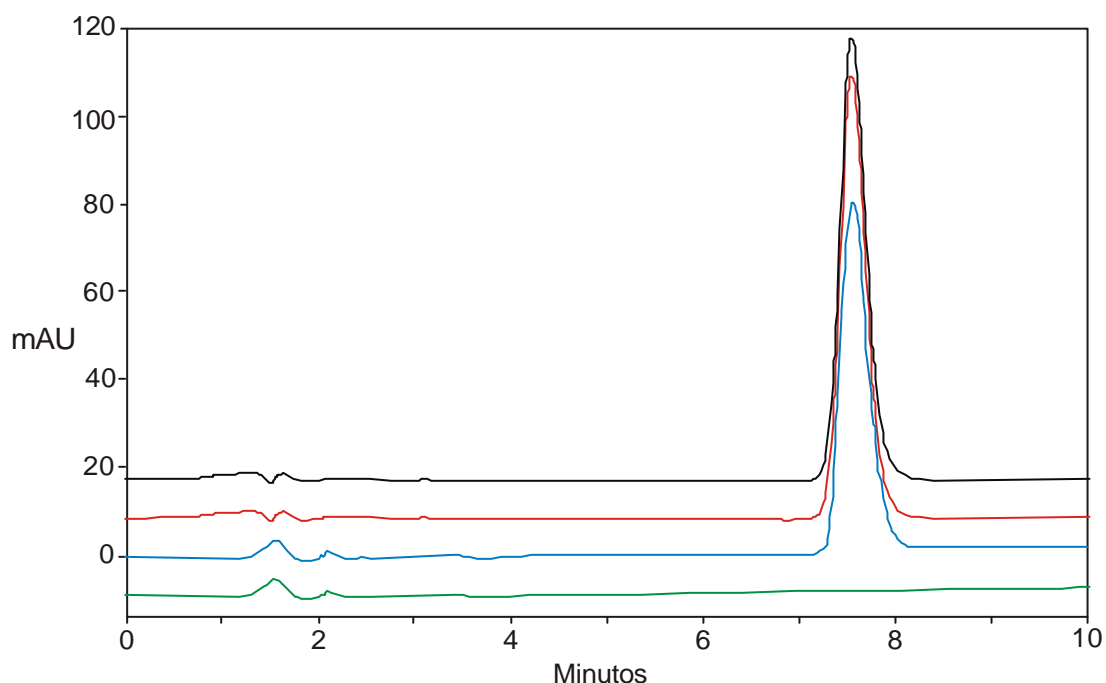


Figura 15. Cromatogramas obtidos para SQR (preto), SIB1 (vermelho), CAP (azul) 60 µg/mL e excipientes de CAP (verde), diluídos na fase móvel, de acordo com o método desenvolvido por CLAE. Condições de análise: coluna Macherey-Nagel Nucleosil® C₈ ec, 150 x 4,0 mm, partículas 5 µm, poros 100 ?; fase móvel: ACN e água (75:25 V/V), 0,3% trietilamina, pH 7,0 (H₃PO₄); λ = 225 nm; fluxo 1,2 mL/min.

Tabela 11. Avaliação dos parâmetros cromatográficos, para o método desenvolvido por CLAE, para o doseamento do cloridrato de sibutramina monoidratado.

Parâmetro	Resultados	
	Recomendado*	Método Desenvolvido
Tempo de retenção (t_R)	-	7,53
Fator de capacidade (k')	> 2,0	6,3
Resolução (R_s)	> 2,0	-
Assimetria (TF)	= 2,0	1,20
Número de pratos teóricos (N)	> 2000	3400

* FDA (1994) e SHABIR, 2003.

5.3.2.1 Especificidade

A especificidade avalia a capacidade do método em medir exatamente o analito na presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação de componentes da matriz. Quando a(s) impureza(s) ou o(s) produto(s) de degradação não estiverem disponíveis, pode-se provocar a formação desses submetendo-se o fármaco a condições de estresse (BRASIL, 2003 b; ICH, 2005; USP 30, 2007).

As condições de estresse empregadas para originar os produtos de degradação do cloridrato de sibutramina foram: temperatura, luz, umidade, hidrólise ácida, hidrólise alcalina e oxidação.

5.3.2.1.1 Temperatura

Conforme pode ser verificado na Figura 16, não houve a formação de produtos de degradação quando a SQR e o fármaco presente no conteúdo de CAP foram submetidos à temperatura de 80 °C, durante 24 horas. A pureza dos picos obtidos foi de 1,0, tanto para o fármaco em SQR quanto em CAP.

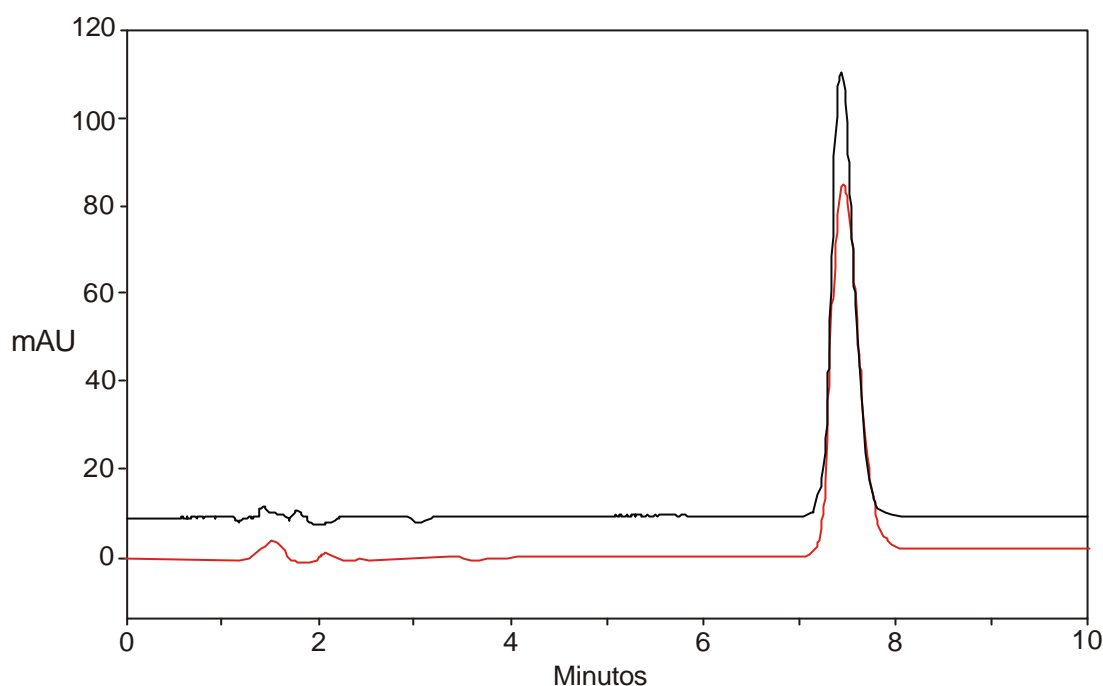


Figura 16. Cromatograma da solução de SQR (preto) e CAP (vermelho) 60 µg/mL, diluídas em fase móvel, após serem submetidas à temperatura de 80 °C, durante 24 horas, conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10 (p. 47).

5.3.2.1.2 Luz ultravioleta

O ensaio em branco realizado paralelamente com a solução protegida da incidência da luz ultravioleta foi realizado para verificar se a degradação ocorre exclusivamente devido à exposição do fármaco à radiação ultravioleta. Assim, elimina-se a possibilidade da interferência do leve aquecimento gerado pela lâmpada.

Observou-se que o fármaco na solução protegida da radiação (branco) não sofreu degradação, enquanto que para uma solução da SQR exposta por 24 horas à lâmpada ultravioleta de 254 nm foram observados dois picos secundários, caracterizando a formação de produtos de degradação. O pico principal, característico do cloridrato de sibutramina, apresentou pureza de 0,999. Nessas condições, o teor da SQR reduziu para cerca de 80%. Os respectivos cromatogramas são apresentados na Figura 17.

As áreas dos picos secundários observados, nos t_R 5,5 e 6,3 minutos, representam 0,4 e 0,7% do pico principal respectivamente. Além disso, seus t_R são inferiores ao do cloridrato de sibutramina, indicando que os produtos formados são mais polares que o produto original.

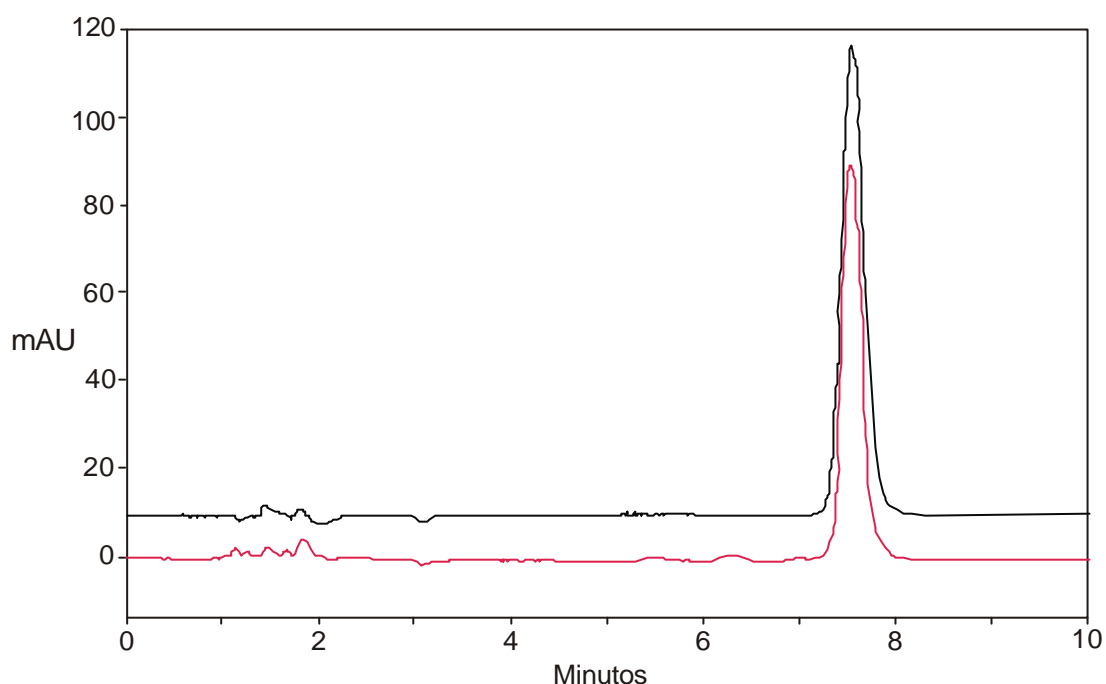


Figura 17. Cromatograma da SQR 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$, diluída em fase móvel, sem incidência de radiação (preto) e após ser submetido à luz ultravioleta 254 nm durante 24 horas (vermelho), conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10 (p. 47).

5.3.2.1.4 Hidrólise ácida

O fármaco, submetido ao meio ácido durante duas horas, não apresentou picos sugestivos de degradação (Figura 18). Além disso, não foi observada redução do teor do fármaco em SQR e em CAP. A pureza do pico do fármaco em SQR foi de 1,0 e em CAP foi de 0,999.

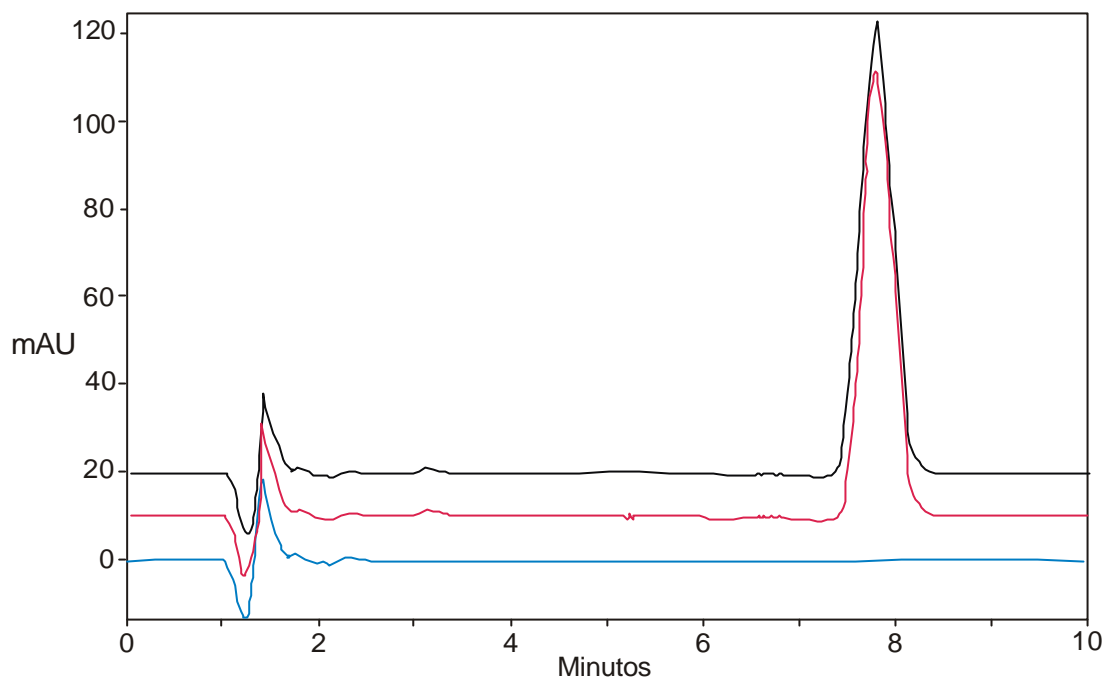


Figura 18. Cromatogramas obtidos após hidrólise ácida durante duas horas para: cloridrato de sibutramina em soluções 60 $\mu\text{g/mL}$, diluídas em fase móvel, de SQR (preto) e de CAP (vermelho); branco (azul). Análise conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10.

5.3.2.1.5 Hidrólise alcalina

Após duas horas de reação de hidrólise em meio alcalino, o teor da SQR do fármaco foi reduzido para cerca de 98%. Não foi observado, porém, o aparecimento de picos secundários correspondentes a produtos de degradação. Os cromatogramas obtidos são apresentados na Figura 19. A pureza obtida para os picos correspondentes ao fármaco em SQR e em CAP foi de 1,0.

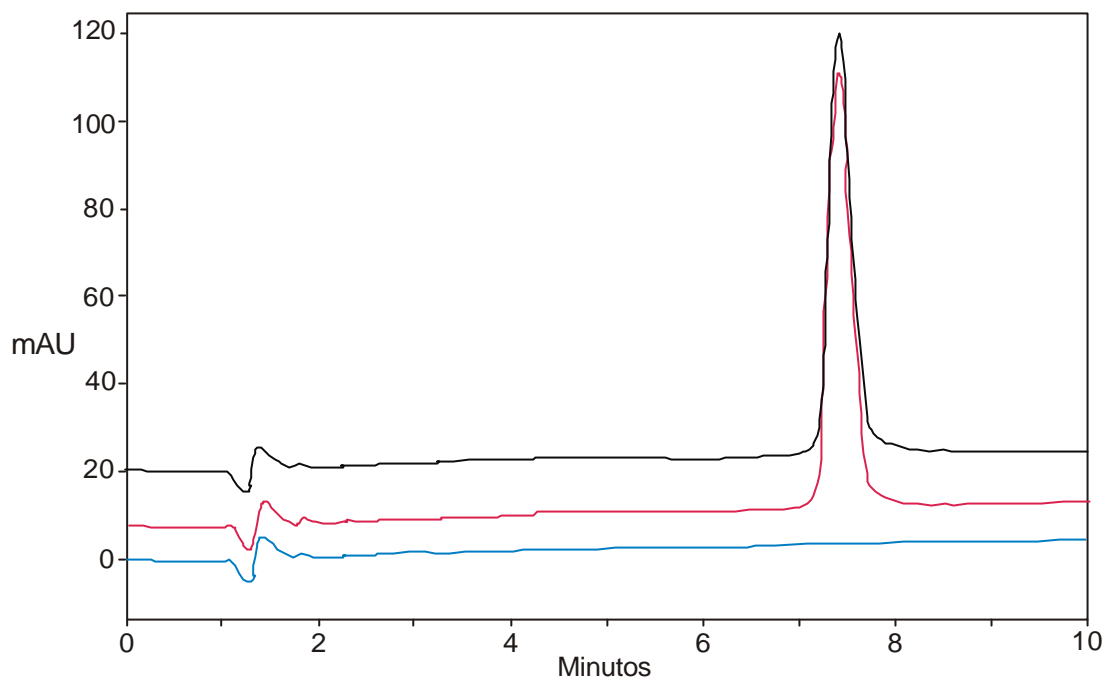


Figura 19. Cromatogramas obtidos após hidrólise alcalina durante duas horas para: cloridrato de sibutramina em soluções 60 $\mu\text{g/mL}$, diluídas em fase móvel, de SQR (A) e de CAP (B); branco (C). Análise conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10.

5.3.2.1.6 Oxidação

Verificou-se um pico secundário com o t_R maior que o principal, provavelmente devido à formação de um produto menos polar que a sibutramina. No t_R de dois minutos é observado um pico com elevada absorção, o qual é atribuído ao conservante utilizado no peróxido de hidrogênio. Houve uma redução considerável do teor após duas horas de reação para aproximadamente 69%. O pico correspondente à SQR apresentou pureza de 0,999 e a sua resolução em relação ao pico próximo é de 4,8. Os cromatogramas são apresentados na Figura 20.

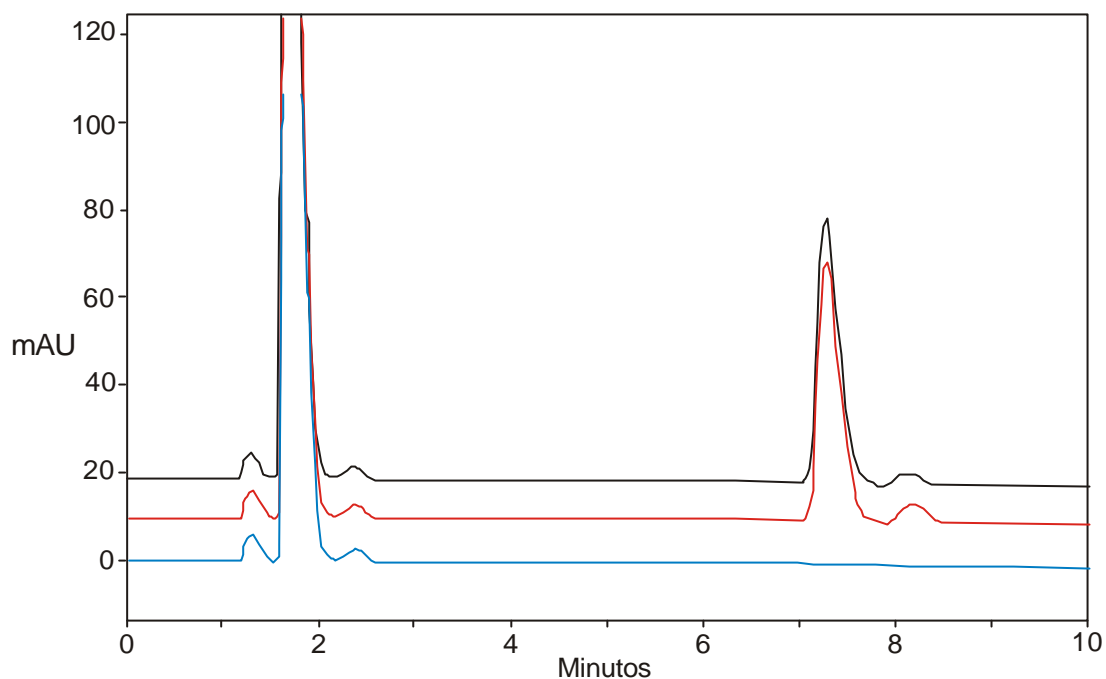


Figura 20. Cromatograma da solução de cloridrato de sibutramina monoidratado 60 µg/mL, diluída em fase móvel, após oxidação com peróxido de hidrogênio 3% durante duas horas. Análise de SQR (preto), CAP (vermelho) e branco (azul), conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10.

5.3.2.1.7 Solução simulada de excipientes

Para verificar se há interferência dos excipientes na determinação do cloridrato de sibutramina em CAP, analisou-se uma solução simulada com os mesmos. As concentrações finais de cada um deles foram escolhidas considerando aquelas correspondentes a uma solução contendo 60 µg/mL do fármaco em CAP. A proporção de cada excipiente foi definida de acordo com sua quantidade usual na forma farmacêutica cápsulas (KIBBE, 2000).

Conforme comparação entre o cromatograma obtido para os excipientes e o do cloridrato de sibutramina na forma farmacêutica (CAP), não há interferência dos primeiros na determinação do fármaco. Além disso, a pureza do pico para o fármaco em CAP foi de 1,000 (Figura 15, p. 90).

5.3.2.2 Linearidade

A linearidade de um método corresponde à sua capacidade de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, num intervalo especificado (BRASIL, 2003 b; ICH, 2005; USP 30, 2007).

As áreas correspondentes às concentrações utilizadas para cada uma das três curvas são apresentadas na Tabela 20 (ANEXO). O gráfico correspondente à curva padrão obtida com sete concentrações é mostrado na Figura 21. O coeficiente de correlação (r) para a curva resultante foi de 0,99999, estando de acordo com o critério mínimo aceitável de 0,99 (BRASIL, 2003 b). Conclui-se, então, que o método de CLAE resulta em áreas correlacionadas à concentração do fármaco.

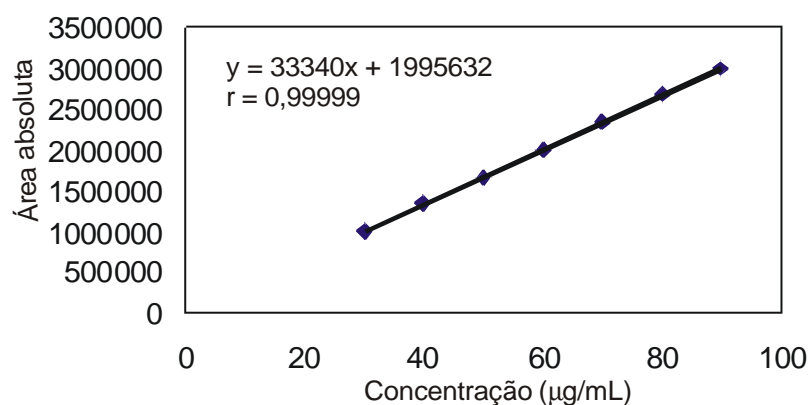


Figura 21. Representação gráfica da curva padrão obtida para o cloridrato de sibutramina monoidratado por CLAE, conforme método descrito no Quadro 10 (p. 47).

A análise de variância (ANOVA) para os resultados obtidos nas três curvas padrão é demonstrada na Tabela 21 (ANEXO). Comprovou-se que há regressão linear significativa ($F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$) e não há desvio da linearidade ($F_{\text{calc}} < F_{\text{tab}}$) no método por CLAE.

5.3.2.3 Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ)

O limite de detecção (LD) de um método analítico equivale à menor quantidade do analito que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada. Enquanto o limite de quantificação (LQ) corresponde à menor quantidade do analito que pode ser quantificada com exatidão e precisão (BRASIL, 2003 b; ICH, 2005; USP 30, 2007).

De acordo com os códigos oficiais (BRASIL, 2003 b; ICH, 2005; USP 30, 2007), o LD e o LQ podem ser calculados por equações (item 4.3.2.3, p. 50), com os dados da linearidade. Para o cálculo foram utilizados o coeficiente de regressão linear (33340) e o desvio padrão do intercepto (23102), ambos obtidos a partir da curva padrão média. Então, considerando-se esses dados, estimou-se que: LD = 2,29 µg/mL e LQ = 6,93 µg/mL.

5.3.2.4 Precisão

A precisão avalia a proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. A repetibilidade avalia a concordância entre os resultados dentro de um curto período com o mesmo analista e mesma instrumentação. Já a precisão intermediária considera os mesmos parâmetros, porém em dias diferentes (BRASIL, 2003 b; ICH, 2005).

Os resultados obtidos, para a repetibilidade e precisão intermediária na quantificação do cloridrato de sibutramina como matéria-prima (SIB1) e cápsulas (CAP), são apresentados nas Tabelas 12 e 13, respectivamente. Para os cálculos dos teores, as áreas das amostras foram comparadas às áreas obtidas para SQR. De acordo com os DPR obtidos para a análise do fármaco como matéria-prima e cápsulas, o método foi considerado preciso.

Tabela 12. Resultados obtidos para a repetibilidade e precisão intermediária, referentes ao método desenvolvido por CLAE para o doseamento do cloridrato de sibutramina na forma de matéria-prima (amostra SIB1).

n	1	2	3	4	5	6	Repetibilidade Média (%)	DPR (%)
Dia 1	100,71	100,79	100,89	100,47	100,66	101,36	100,81	0,30
Dia 2	100,24	100,06	100,64	99,89	99,10	99,21	99,86	0,60
Dia 3	99,41	99,69	99,86	100,67	101,24	100,64	100,25	0,71
Precisão intermediária							100,31	0,42

Tabela 13. Resultados obtidos para a repetibilidade e precisão intermediária, referentes ao método desenvolvido por CLAE para o doseamento do cloridrato de sibutramina na forma de produto acabado (amostra CAP).

n	1	2	3	4	5	6	Repetibilidade Média (%)	DPR (%)
Dia 1	94,68	92,57	92,58	94,60	93,23	92,91	93,42	1,03
Dia 2	92,93	96,65	95,71	95,33	92,51	94,91	94,67	1,71
Dia 3	92,70	90,80	91,54	91,51	92,45	91,01	91,67	0,80
Precisão intermediária							93,25	1,62

5.3.2.5 Exatidão

A exatidão do método analítico considera a proximidade dos resultados obtidos por ele em relação ao valor aceito como verdadeiro (BRASIL, 2003 b; ICH, 2005; USP 30, 2007).

O método por CLAE desenvolvido para a determinação de matéria-prima foi considerado exato na faixa de 30 a 90 µg/mL, conforme inferência estabelecida com relação à precisão, linearidade e especificidade previamente determinadas (ICH, 2005).

De acordo com o ICH (2005), a exatidão para produto acabado pode ser expressa como percentual de recuperação. Tais dados foram obtidos pelo doseamento de soluções da amostra CAP adicionadas de quantidades conhecidas da SQR e esses são apresentados na Tabela 14. A recuperação média obtida foi de 101,21%, demonstrando que o método desenvolvido por CLAE é exato para a determinação do teor do fármaco em cápsulas.

Tabela 14. Resultados da recuperação do cloridrato de sibutramina em cápsulas.

	Concentração SQR (mg/mL)		Recuperação	Média
	Adicionada	Recuperada	(%)	(%)
A ₁	10,00	9,94	99,40	101,50
		10,23	102,30	
		10,28	102,80	
A ₂	20,00	20,12	100,60	101,23
		20,24	101,20	
		20,38	101,90	
A ₃	30,00	30,39	101,30	100,90
		30,21	100,70	
		30,21	100,70	
Recuperação média (%)				101,21

5.3.2.6 Robustez

A robustez de um método é a avaliação de sua capacidade em resistir a pequenas alterações dos parâmetros analíticos (BRASIL, 2003 b; ICH 2005).

A solução de SQR manteve-se estável após armazenamento durante oito horas em temperatura e luz ambiente. Antes dessa condição, o teor obtido para a amostra SIB1 foi de 100,31% e após foi de 100,08%.

Os parâmetros cromatográficos obtidos em cada condição avaliada e os resultados para a concentração da amostra SIB1 constam na Tabela 15. Os últimos valores foram calculados em relação à área da SQR em análise concomitante. O método desenvolvido por CLAE demonstrou-se robusto. Apenas o tempo de

retenção foi afetado pela mudança de parâmetros sendo a alteração da fase móvel para ACN:água 73:27 (V/V) a que mais influenciou na alteração do mesmo.

Tabela 15. Parâmetros cromatográficos e teor da amostra SIB1 para variações do método desenvolvido por CLAE para o cloridrato de sibutramina.

Modificação	Teor de SIB1 (%) [*]	t _R	N	TF	k'
Normal	100,31	7,53	3400	1,20	6,3
Fase móvel com pH 6,8	100,08	7,90	3800	1,23	6,6
Fase móvel com pH 7,2	100,11	7,42	3500	1,23	6,1
Fase móvel ACN:água 73:27	99,80	8,18	3900	1,21	6,8
Fase móvel ACN:água 77:23	100,24	7,18	3600	1,22	6,7
Coluna Shimadzu ^{**}	99,76	7,12	4400	1,30	6,1
Outro equipamento	100,38	7,70	3320	1,15	6,72

* Cada valor é correspondente à área média de três injeções, calculada em relação à área obtida para análise da SQR nas mesmas condições.

** Coluna C₈ 150 x 4,0 mm, partículas 5 µm, poros 100 ?.

t_R = tempo de retenção, em minutos; N = número de pratos teóricos; TF= assimetria; k'= fator de capacidade

5.3.3 Comparação estatística entre os métodos de doseamento

Os métodos 4 e 5 por VMNA, com uso da mistura ácido acético e anidrido acético e cujos indicadores de ponto final foram cristal violeta e naftolbenzeína, respectivamente, foram julgados mais adequados para a determinação quantitativa (item 5.3.1, p. 85). Os teores obtidos para esses dois métodos sugeridos e para a CLAE são apresentados na Tabela 16. A comparação por análise de variância (ANOVA) está na Tabela 22, em ANEXO.

Para a avaliação estatística, foram considerados os diferentes números de repetições entre os métodos. Não houve diferença significativa entre os métodos

avaliados, demonstrando que eles são intercambiáveis ($p < 0,05$). Dessa forma, os métodos 4 e 5 são considerados adequados e exatos para a determinação quantitativa do cloridrato de sibutramina em farmácias magistrais.

Tabela 16. Comparação dos resultados dos teores obtidos por CLAE e pelos métodos 4 e 5 por VMNA.

	CLAE	VMNA Método 4	VMNA Método 5
n	18	5	5
Média (%)	100,31	99,53	99,62
DPR (%)	0,42	0,83	0,67

Presume-se que os métodos desenvolvidos por VMNA possam ser utilizados para o doseamento do cloridrato de sibutramina monoidratado em cápsulas manipuladas. No entanto, as farmácias possuem excipientes diferentes entre si. Assim, cabe a cada uma delas, mediante interesse, validar o método em seu estabelecimento.

Sabe-se que alguns excipientes, como o estearato de magnésio, reagem com o ácido perclórico em meio não-aquoso. Dessa forma, antecipa-se que é necessária a realização de um ensaio em branco com a quantidade de excipientes equivalente à massa de conteúdo pesada. O volume de titulante gasto para análise do branco deve ser descontado do volume gasto para a amostra.

5.4 ESTUDO PRELIMINAR DE ESTABILIDADE

O estudo preliminar de estabilidade é útil para verificar se há degradação do fármaco quando ele é submetido a condições de estresse. A avaliação preliminar do estudo de estabilidade de um fármaco é acelerada, sendo posteriormente verificada

em longa duração. O comportamento do fármaco deve ser acompanhado por metodologia validada e sensível à detecção de moléculas similares ao fármaco (ICH, 2003).

Frente à inexistência de informações referentes à estabilidade do cloridrato de sibutramina monoidratado, neste trabalho foi realizado tal estudo. O fármaco foi submetido à temperatura e à radiação UVA e UVB, condições preconizadas pelo ICH (2003).

5.4.1 Exposição à temperatura elevada

A estabilidade térmica (60 °C) foi avaliada numa temperatura inferior à utilizada para o ensaio de especificidade na validação do método por CLAE (80 °C, descrita no item 4.3.2.1.1, p. 47). Optou-se por 60 °C para avaliação da estabilidade com o intuito de avaliar uma temperatura geralmente empregada nestes estudos (ICH, 2003).

Os resultados dos teores obtidos para a SQR exposta em estado sólido à temperatura de 60 °C, durante vários tempos, são apresentados na Tabela 17. Após 4 dias de exposição a essa condição foi verificada a redução do teor da SQR para 95,47%.

Tabela 17. Teores de SQR após ser submetida em estado sólido à temperatura de 60 °C, em diferentes tempos.

Tempo de exposição (dias)	Teor (%)*	DPR (%)
1	99,56	0,16
2	99,16	0,14
4	95,47	0,08
10	93,70	0,28

*Média de três injeções.

Observou-se um pico secundário no cromatograma obtido por CLAE para a SQR exposta a essa condição apenas após 10 dias (Figura 22). O provável produto de degradação apresentou uma área correspondente a 4,5% em relação à área do cloridrato de sibutramina, além de um tempo de retenção menor, demonstrando ser um composto mais polar. Seu espectro na região do ultravioleta, obtido com auxílio do detector DAD é demonstrado na Figura 23, observando-se que o mesmo é diferente do espectro da sibutramina (item 5.2.12, p. 81). Outros produtos, formados em quantidades pequenas, apresentaram t_R abaixo de dois minutos.

A avaliação do cloridrato de sibutramina em CAP, exposta à 60 °C por 10 dias, gerou uma redução de 5,9% em relação ao teor da amostra não degradada. Esse resultado é semelhante ao obtido para a SQR, com a mesma condição, e que está descrito na Tabela 17.

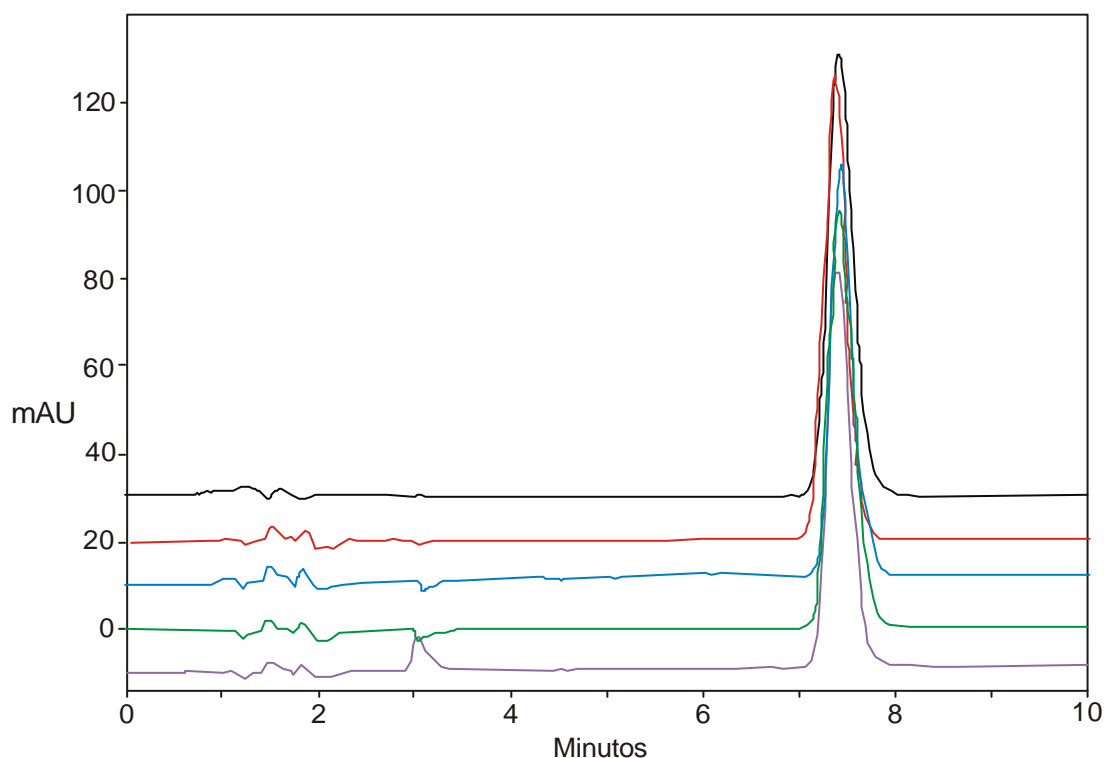


Figura 22. Cromatogramas da solução de cloridrato de sibutramina monoidratado (SQR) 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$, diluída em fase móvel, antes (preto) e após ser submetida à temperatura de 60 °C, durante um (vermelho), dois (azul), quatro (verde) e dez (violeta) dias, conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10.

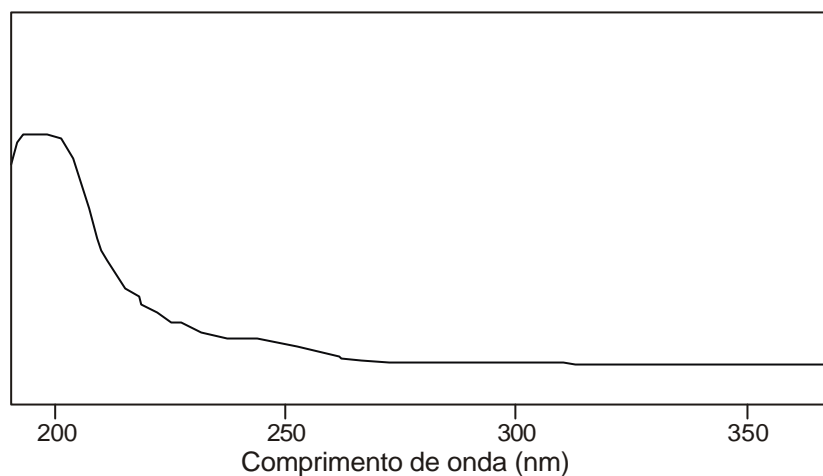


Figura 23. Espectro de UV do pico com t_R de três minutos, obtido após exposição da solução de SQR 60 $\mu\text{g/mL}$, diluída em fase móvel, à radiação UV 254 nm por dez dias.

5.4.1.2 Exposição à radiação ultravioleta

O estudo foi realizado em solução porque essa condição permite melhor penetrabilidade da luz em comparação à substância no estado sólido (CONNORS, 1986).

Os cromatogramas obtidos para SQR nos diferentes tempos de exposição da solução metanólica à radiação UV 254 nm são apresentados na Figura 24 e os seus respectivos teores na Tabela 18.

Verificou-se um decréscimo do teor de SQR mediante exposição à lâmpada UV 254 nm, além de picos secundários nos cromatogramas. Com o aumento do tempo de exposição, observou-se o aumento da área de tais picos e a redução do pico referente ao cloridrato de sibutramina. Observou-se que o pico com t_R de três minutos (Figura 22) não aparece sob esta condição de estresse. Em compensação, os picos com t_R abaixo de dois minutos apresentam áreas maiores do que aqueles originados pela exposição à temperatura.

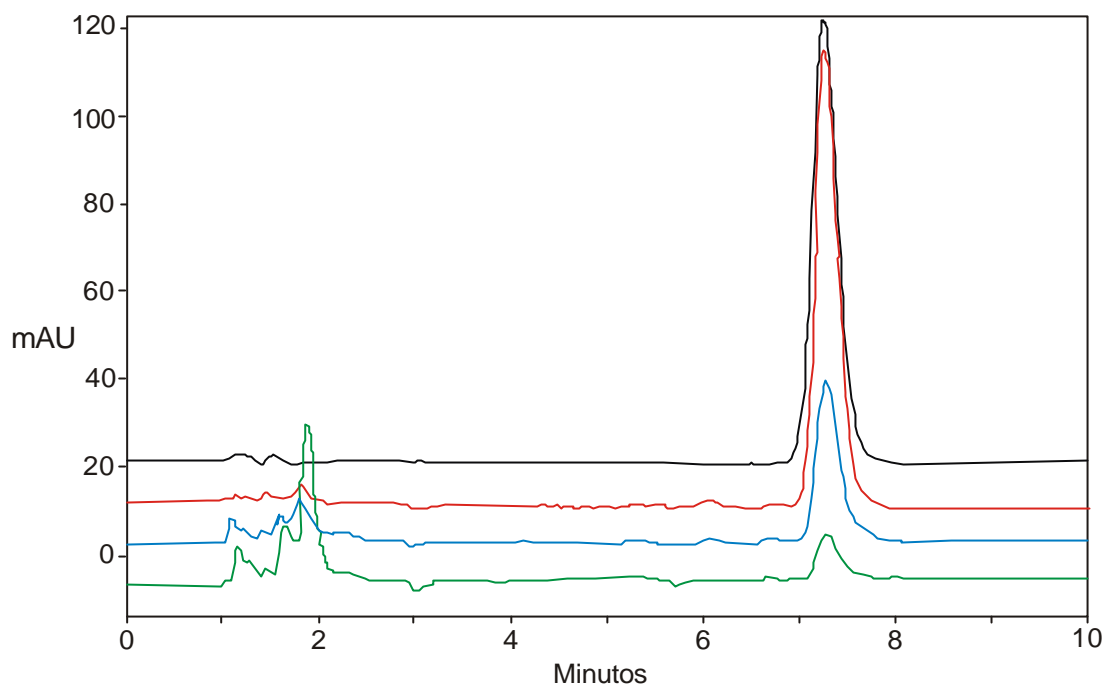


Figura 24. Cromatogramas para SQR 60 µg/mL, diluída em fase móvel, protegida da luz durante quatro dias (preto) e após ser submetida à radiação UV 254 nm, durante um (vermelho), dois (azul) e quatro (verde) dias, conforme condições cromatográficas descritas no Quadro 10.

São necessários estudos mais prolongados para uma conclusão definitiva. Entretanto, os estudos preliminares realizados demonstraram que, entre as condições de estresse avaliadas, a radiação UV em 254 nm provoca maior degradação do fármaco.

Tabela 18. Teores de SQR 60 µg/mL, diluída em fase móvel, após ser submetida à radiação UV 254 nm, em diferentes tempos.

Tempo de exposição (dias)	Teor (%)*	DPR (%)
1	79,20	0,32
2	53,79	0,33
4	5,21	0,47
4 (branco)	99,87	0,23

*Média de três determinações.

6. CONCLUSÕES

- As amostras de matérias-primas do cloridrato de sibutramina monoidratado (SIB1, SIB2 e SIB3) apresentaram conformidade com a SQR, pelas técnicas qualitativas desenvolvidas: descrição, solubilidade, pH, faixa de fusão, DSC, TGA, reação para cloretos, reação para aminas terciárias, CCD, IV, UV e aquamетria;
- A identificação do cloridrato de sibutramina monoidratado na forma de cápsulas (CAP) é possível pelos métodos: CCD e reação para aminas terciárias;
- A reação para cloretos, a reação para aminas terciárias, a CCD e a aquamетria pelo método gravimétrico são técnicas adequadas para a identificação do fármaco em farmácias magistrais;
- A análise por DSC das amostras de cloridrato de sibutramina monoidratado indicam a possível existência de diferentes formas polimórficas ou pseudo-polimórficas para o fármaco, além dos eventos térmicos de perda de água de hidratação, fusão e volatilização; A análise por Karl-Fischer constitui o método mais exato para a determinação do teor de água no fármaco, demonstrando coerência com o valor de especificação;
- Para estabelecimentos que não possuam equipamento de Karl-Fischer, recomenda-se a realização da perda por dessecação em estufa a 105 °C, por uma hora;
- A análise por TGA indica o teor de água no cloridrato de sibutramina monoidratado;
- Tanto a SQR e a amostra SIB1 são misturas racêmicas; Os métodos propostos para o doseamento por VMNA utilizaram a mistura de ácido acético glacial e anidrido acético e como indicadores cristal violeta e naftolbenzeína, respectivamente, podendo ser realizados em farmácias magistrais; A quantificação do cloridrato de sibutramina monoidratado por VMNA em produto acabado deve ser validada em cada estabelecimento, considerando os excipientes empregados;
- O método de doseamento por CLAE se mostrou adequado para a determinação quantitativa do cloridrato de sibutramina monoidratado nas formas de matéria-prima e cápsulas;

➤ O estudo preliminar de estabilidade, realizado mediante exposição do cloridrato de sibutramina monoidratado à temperatura de 60 °C, mostrou pequena redução de teor do fármaco, além da formação de produtos de degradação, quando avaliado por CLAE;

➤ O estudo preliminar de estabilidade, realizado mediante exposição do fármaco à radiação UV 254 nm por até quatro dias, mostrou que este sofre redução considerável do teor, além da formação de produtos de degradação, quando avaliado por CLAE.

7. REFERÊNCIAS

ABBOTT GMBH & CO. KG (DE). *Cloridrato de N,N-dimetil-1-[1 (4 clorofenil) ciclobutil]-3-metilbutilamina monoidratado sólido e composições farmacêuticas contendo o mesmo*. BR n. PI1100069-4. 23 de outubro de 1996. *Instituto Nacional da Propriedade Industrial*. Disponível em <<http://pesquisa.inpi.gov.br/MarcaPatente/servlet/PatenteServletController?Action=detail&CodPedido=258398&PesquisaPorTitulo=CICLOBUTIL&PesquisaPorResumo=&PesquisaPorDepositante=&PesquisaPorInventor=&PesquisaPorProcurador=>>>. Acesso em 21.02.08.

ABBOTT GMBH & CO. KG (DE). *Cloridrato de N,N-dimetil-1-[1 (4 clorofenil) ciclobutil]-3-metilbutilamina monoidratado sólido e composições farmacêuticas contendo o mesmo*. BR n. PI1100069-4. 23 de outubro de 1996. *Revista da Propriedade Industrial*. Rio de Janeiro, n.1843, p.163, 02 de maio de 2006 a.

ABBOTT. Reductil. Rio de Janeiro, 2006 b. 1 f. Bula.

ABESO. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. *Obesidade em notícia*. 2006. http://www.abeso.org.br/reportagens/posicao_oficial_formulacao_medicamentos.htm>. Acesso em 21.02.08.

ALLISON, D.B.; FONTAINE, K.R.; HESHKAS, S.; MENTORE, J.R.; HEYMSFIELD, S.B. Alternative treatments for weight loss: a critical review. *Critical Review of Food and Science Nutrition*, v.41, n.1, p.1-28, 2001. Resumo.

ANFARMAG. Associação Nacional de Farmacêuticos Magistrais. *Farmacoterapia da obesidade: informações básicas para prescrição e aviamentos racionais e seguros*, 2006.

ANFARMAG. Associação Nacional de Farmacêuticos Magistrais. *Farmácias magistrais apóiam prescrição ética de medicamentos para tratamento de obesidade*. 2008. Disponível em <http://www.anfarmag.org.br/integra.php?codigo=809&codcategoria_menu=169>. Acesso em 11.02.08.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN JUNIOR, L.V.; OPPIDO, T.; OLIVEIRA, E.G.; BENEDETTI, I.C. *Farmacotécnica: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos*. São Paulo: Premier, 2000. 568 p.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Anvisa alerta COB sobre alimentos adulterados com sibutramina*. Brasília, 22 de junho de 2007. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/divulga/noticias/2007/220607_3.htm>. Acesso em 20.02.08.

ARMIJO, C.J.V.; COSTA, I.M.; LONGUINI, R.; PETZHOLD, C.L.; PETROVICK, P.R. Métodos termo-analíticos e suas aplicações nas ciências farmacêuticas. *Caderno de Farmácia*, v.20, n.1, p.29-47, 2004.

AULTON, M.E.; GONZALES O.G.; PETROVICK, P.R.; BASSANI, V.L. *Delineamento de formas farmacêuticas*, 2. ed, Porto Alegre: Artmed, p.41, 2005.

- BAILEY, C.J.; TURNER, S.L.; BATES, S.H.; JONES R.B. Sibutramine metabolites increase glucose transport by cultured rat muscle cells. *International Journal of Obesity*. n.25, p.478-85, 2001.
- BALCIOGLU, A.; WURTMAN, R.J. Sibutramine, a serotonin uptake inhibitor, increases dopamine concentrations in rat striatal and hypothalamic extracellular fluid. *Neuropharmacology*. v.39, p.2352-9, 2000.
- BANSAL, G.; SINGH, M.; JINDAL, K.C. Forced degradation study on gliclazide and application of validated stability-indicating HPLC-UV method in stability testing of gliclazide tablets. *Chromatographia*, v.66, n.9/10, p.751-5, 2007.
- BERNAL, C.; COUTO, A.B.; BREVIGLIERI, S.T.; CAVALHEIRO, E.T.G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. *Química Nova*. v.25, n.5, p.849-55, 2002.
- BÉRUBÉ-PARENT, S.; PRUD'HOMME, D.; ST-PIERRE, S.; DOUCET, E.; TREMBLAY, A. Obesity treatment with a progressive clinical tri-therapy combining sibutramine and a supervised diet – exercise intervention. *International Journal of Obesity*, n.25, p.1144-53, 2001.
- BHANDARI, K.; SRIVASTAVA, S.; SHANKARB, G.; NATH, C. Synthesis and appetite suppressant activity of 1-aryloxy-2-substituted aminomethyltetrahydro-naphthalenes as conformationally rigid analogues of fluoxetine. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, n.14, p.2535-44, 2006.
- BLANCK, H.M.; KHAN L.K.; SERDULA M.K. Diet and physical activity behavior among users of prescription weight loss medications. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity*, v.1, n.17, p. 1-10, 2004.
- BP 2007. *British Pharmacopoeia*. Pharmacopoeia Commission British. London: The Stationery Office, 2007.
- BRASIL. Ministério do Trabalho. Portaria n.º 3214, de 08 de junho de 1978. *NR 15 - Atividades e operações insalubres*. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 06 de julho de 1978.
- BRASIL. *Lei nº 9279, de 14 de maio de 1996*. Regula direitos e obrigações relativos à propriedade industrial. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 15 de maio de 1996.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998*. Aprova o regulamento técnico sobre substâncias e medicamentos sujeitos a controle especial. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, p. 37, 19 de maio de 1998.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Resolução - RDC nº 33, de 19 de abril de 2000 (Revogada)*. Aprova o regulamento técnico sobre boas práticas de manipulação de medicamentos em farmácias. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 24 de abril de 2000.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Resolução - RDC nº 354, de 18 de dezembro de 2003 (Revogada)*. Regulamento Técnico que trata sobre a manipulação de produtos farmacêuticos, em todas as formas farmacêuticas de uso interno, que contenham substâncias de baixo índice terapêutico, aos estabelecimentos farmacêuticos que cumprirem as condições especificadas. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 22 de dezembro de 2003 a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003*. Guia de validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 02 de junho de 2003 b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Resolução RDC nº 210, de 04 de agosto de 2003*. Determina a todos os estabelecimentos fabricantes de medicamentos, o cumprimento das diretrizes estabelecidas no Regulamento Técnico das Boas Práticas para a Fabricação de Medicamentos. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 14 de agosto de 2003 c.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Resolução RDC nº 306, de 07 de dezembro de 2004*. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 10 de dezembro de 2004.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Consulta Pública nº 31, de 15 de abril de 2005 (Concluída)*. Proposta de regulamento técnico sobre boas práticas de manipulação de medicamentos para uso humano em farmácias. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 18 de abril de 2005 a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Resolução RE nº 1, de 29 de julho de 2005*. Autoriza *ad referendum*, a publicação do guia para a realização de estudos de estabilidade. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 01 de agosto de 2005 b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Lista de DCB 2005*. Atualizada pela RDC nº 83, de 16 de maio de 2006. Diário oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, 17 de maio de 2006 a.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Resolução - RDC nº 214, de 12 de dezembro de 2006 (Revogada)*. Dispõe sobre boas práticas de manipulação de medicamentos para uso humano em farmácias. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 18 de dezembro de 2006 b.

- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Resolução - RDC nº 58, de 05 de setembro de 2007*. Dispõe sobre o aperfeiçoamento do controle e fiscalização de substâncias psicotrópicas anorexígenas e dá outras providências. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 06 de setembro de 2007 a.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. *Resolução - RDC nº 67 de 08 de outubro de 2007*. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 09 de outubro de 2007 b.
- BRASIL. Ministério da Saúde. *Resolução RDC nº 88, de 18 de dezembro de 2007*. Dispõe sobre a atualização do Anexo I, da Portaria SVS/MS nº 344, de 12 de maio de 1998. Diário Oficial da União da República Federativa do Brasil, Brasília, 19 de dezembro de 2007 c.
- BUDAVARI, S. (Ed.) *The Merck Index*. 13th ed. Rahway: Merck Research Laboratories. 2001.
- BUVÁRI-BARCZA, A.; BARCZA, L. Problems in the interpretation of nonaqueous titrations. *Pharmazie*, v.60, n.4, p 243-6, 2005.
- BVS. Biblioteca Virtual em Saúde. Por: Antonio Celso da Costa Brandão em: Sex 14/07/2006. *Labogen fabrica no Brasil substância para reduzir apetite*. Disponível em <http://cvirtual-anvisa.bireme.br/tiki-read_article.php?articleId=813&highlight=genÃ©rico>. Acesso em 17.02.08.
- CARNEIRO, M.F.G.; ACÚRCIO, F.A.; GUERRA JÚNIOR, A.A. *Avaliação do consumo e dispensação de psicotrópicos anorexígenos consumidos em Belo Horizonte*. Departamento de Farmácia Social. Especialização em Saúde Pública da Universidade Federal de Minas Gerais. 2005. Resumo. Disponível em <http://comvisa.anvisa.gov.br/tiki-read_article.php?articleId=151&highlight=inibidores>. Acesso em 21.02.08.
- CFF. O caso clonidina. *Pharmacia Brasileira*, ano III, n.39, 2003.
- CHAPUT, J.P.; TREMBLAY, A. Current and novel approaches to the drug therapy of obesity. *European Journal of Clinical Pharmacology*. n.62, p.793-803, 2006.
- CHEN, J.; LU, W.; ZHANG, O.; JIANG, X. Determination of the active metabolite of sibutramine by liquid chromatography–electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, v.785, p.197-203, 2003.
- CHERONIS, N.D.; ENTRIKIN, J.B.; HODNETT, E.M. *Semimicro qualitative organic analysis: the systematic identification of organic compounds*. 3rd ed. New York: Interscience, p.132-3, 1965.
- CLARK, D.W.J.; WOOLRYCH, M.H. Sibutramine may be associated with memory impairment. *British Medical Journal*, v.329, 2004.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. *Introdução a métodos cromatográficos*. 7. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1997. 279p.

COUTINHO, W. Etiologia da obesidade. *Revista ABESO*. ano VII, n.30, 2007.

CONNORS, K.A.; IFAN, A. Chromogenic reactions of tertiary amines with polycarboxylic acids and acetic anhydride: Carbon suboxide as the reactive species in the malonic acid reagent. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.76, n.10, p.834-8, 1987.

DANIELS, S.R.; LONG, B.; CROW, S.; STYNE, D.; SOTHERN, M.; VARGAS-RODRIGUES, I.; HARRIS, L.; WALCH, J.; JASINSKY, O; CWIK, K.; HEWKIN, A.; BLAKESLEY, V. Cardiovascular effects of sibutramine in the treatment of obese adolescents: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Pediatrics*, v.120, n.1, p.147-57, 2007.

DING, L.; HAO, X.; HUANG, X.; ZHANG, S. Simultaneous determination of sibutramine and its *N*-desmethyl metabolites in human plasma by liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry method and clinical applications. *Analytica Chimica Acta*, v.492, p.241-8, 2003.

EGER, K.; TROSCHÜTZ, R.; ROTH, H.J. *Arzneistoffanalyse*. 4. ed. Stutegart: Deutscher Apotheker Verlag, 1999. p. 278.

FANG, Q. K.; SENANAYAKE, C.H.; HAN, Z.; MORENCY, C.; GROVER, P.; MALONE, R.E.; BULTER, H.; WALD, S.A.; CAMERON, T.S. First preparation of enantiomerically pure sibutramine and its major metabolite, and determination of their absolute configuration by single crystal X-ray analysis. *Tetrahedron: Asymmetry*, v.10, p.4477-80, 1999.

F. BRAS IV. *Farmacopéia Brasileira*. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988. Parte I.

F. BRAS IV. *Farmacopéia Brasileira*. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 6º Fascículo, 2006. Parte II.

FDA. *Reviewer Guidance, Validation of Chromatographic Methods*, Center for Drug Evaluation and Research, US Food and Drug Administration, 1994.

FDA. *FDA Warns consumers about Brazilian diet pills found to contain active drug ingredients*. 2006. Disponível em <<http://www.fda.gov/bbs/topics/news/2006/NEW01298.html>>. Acesso em 21.02.08.

FEIGL, F. *Spots tests in organic analysis*. 6th ed. Amsterdam: Elsevier, 1960.

FINER, N. Does pharmacologically induced weight loss improve cardiovascular outcome? Impact of anti-obesity agents on cardiovascular risk factors. *European Heart Journal Supplements*, Suppl. L, L32-L38, 2005.

- FUCHS, F.D.; WANNMACHER, L.; FERREIRA, M.B.C. *Farmacologia clínica: fundamentos da terapêutica racional*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.
- FUJIOKA, K.; SEATON, T.B.; ROWE, E.; JELINEK, C.A.; RASKIN, P.; LBOVITZ H.E.; WINSTEIN, S.P. Weight loss with sibutramine improves glycaemic control and other metabolic parameters in obese patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, v.2, p.175-87, 2000.
- GLICK, S.D.; HASKEW, R.E.; MAISONNEUVE, I.M.; CARLSON, J.N.; JERUSSI, T.P. Enantioselective behavioral effects of sibutramine metabolites. *European Journal of Pharmacology*, v.397, p.93-102, 2000.
- GOODMAN, L.S.; GILMAN, A.B.; BRUNTON L.L.; LAZO, J.S.; PARKER, K.L. *Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics*. 11th ed. New York: McGraw-Hill, Medical Publishing Division, 2006. 2021 p.
- GU, C.H.; GRANT, D.J.W. Estimating the relative stability of polymorphs and hydrates from heats of solution and solubility data. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.90, n.9, p.1277-87, 2001.
- GURSOY, A.; ERDOGAN, M.F.; CIN, M.O.; CESUR, M. BASKAL, N. Effect of sibutramine on blood pressure in patients with obesity and well-controlled hypertension or normotension. *Endocrine Practice*, n.11, p.308-12, 2005.
- HAN, Z.; KRISHNAMURTHY, D.; PFLUM, D.; FANG, Q.K.; BUTLER, H. CAMERON, T.S.; WALD, S.A.; SENANAYAKE, C.H. First practical synthesis of enantiomerically pure (R)- and (S)-desmethyilsibutramine (DMS) and unambiguous determination of their absolute configuration by single-crystal X-ray analysis. *Tetrahedron: Asymmetry*, v.13, p.107-9, 2002.
- HAN, Z.X.; KRISHNAMURTHY, D.; SENANAYAKE, C.H. A new and direct asymmetric synthesis of a hindered chiral amine via a novel sulfinat ketimine derived from *N*-tosyl-1,2,3-oxathiazolidine-2-oxide: Practical asymmetric synthesis of (R)-sibutramine. *Organic Process Research & Development*, v.10, n.2, p.327-33, 2006.
- HANSEN, D.L.; TOUBRO, S.; STOCK, M.J.; MACDONALD, I.A.; ASTRUP, A. Thermogenic effects of sibutramine in humans. *American Journal of Clinical Nutrition*, v.68, n.6, p.1180-6, 1998.
- HIND, I.D.; MANGHAM, J.E.; GHANI, S.P.; HADDOCK, R.E.; GARRATT, C.J.; JONES, R.W. Sibutramine pharmacokinetics in young and elderly healthy subjects. *European Journal of Clinical Pharmacology*, v.54, p.847-9, 1999.

- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Diretoria de Pesquisas. Coordenação de Índices de Preços. *Pesquisa de orçamentos familiares 2002-2003*, 2003.
- ICH Harmonized Tripartite Guideline. Stability testing: Photostability testing of new drugs substances and products, Q1B. In: *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*. version 4. 1996.
- ICH Harmonized Tripartite Guideline. Stability testing of new drugs substances and products, Q1A (R2). In: *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*. version 4. 2003.
- ICH Harmonized Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: text and methodology, Q2(R1). In: *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*. version 4. 2005.
- INCB. International Narcotics Control Board. *Report of the International Narcotics Control Board for 2007*. Disponível em <<http://www.incb.org/pdf/annual-report/2007/en/annual-report-2007.pdf>>. Acesso em 29/03/08.
- IOTF. International Obesity Task Force. *Prevalence of adult obesity*, 2008. Disponível em <http://www.who.int/diabetes/diagnostic_criteria/GlobalPrevalenceofAdultObesityFeb08pdf.pdf>. Acesso em 16.02.08.
- JAMES, W.P.T; ASTRUP A.; FINER N.; HILSTED J.; KOPELMAN P.; ROSSNER S.; SARIS W.H.M.; VAN GAAL L.F. Effect of Sibutramine on Weight Maintenance after Weight Loss: a Randomized Trial. *Lancet*, v.256, n.9248, p. 2119-25, 2000.
- KAWAKAMI, K.; MIYOSHI, K.; IDA, Y. Impact of the amount of excess solids on apparent solubility. *Pharmaceutical Research*, v.22, n.9, p.1537-43, 2005.
- KAZAKEVICH, Y.; LOBRUTTO, R. *HPLC for pharmaceutical scientists*. New Jersey: Wiley – Interscience, 2007.
- KIBBE, A.H. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 3. ed. Washington: American Pharmaceutical Association, 2000.
- KIM, D.M.; YOON, S.J; AHN, C.W.; CHA, B.S.; LIM, S.K., KIM, K.R.; LEE, H.C.; HUH, K.B. Sibutramine improves fat distribution and insulin resistance, and increases serum adiponectin levels in Korean obese nondiabetic premenopausal women. *Diabetes Research and Clinical Practice*, n.66, Suppl. 1, S139-S144, 2004.

KIM, K.K.; KANG, H.C.; KIM, S.S.; YOUN, B.B. Influence of weight reduction by sibutramine on female sexual function. *International Journal of Obesity*, v.30, n.5, p.758-63, 2006.

KOROLKOVAS, A. *Análise Farmacêutica*. Rio de Janeiro: Editora Guanabara, 1988. 208 p.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F.F.A.C.; CUNHA, B.C.A. *Dicionário Terapêutico Guanabara*. Edição 2007/2008. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007. 628p.

LACKMAN, L. Kinetic principles and stability testing. IN: Lackman, L.; Lieberman H.A.; Kangig, J.L. *The theory and practice of industrial pharmacy*. 3rd ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986.

LEAL, L.B.; SILVA, M.C.T; SANTANA, D.P. Preços x qualidade e segurança de medicamentos em farmácias magistrais. *Infarma*, v.19, n.1, 2007.

LENARDÃO, E.J.; FREITAG, R.A.; DABDOUB, M.J.; BATISTA A.C.F; SILVEIRA, C.C. "Green chemistry" - Os 12 princípios da química verde e sua inserção nas atividades de ensino e pesquisa. *Química Nova*, v.26, n.1. São Paulo, 2003.

LIU, Y.L.; CONNOLEY, I.P.; HARRISON, J.; HEAL, D.J.; STOCK, M.J. Comparison of the thermogenic and hypophagic effects of sibutramine's metabolite 2 and other monoamine reuptake inhibitors. *European Journal of Pharmacology*, v.452, p.49-56, 2002.

LI, Z.; MAGLIONE, M.; TU, W.; MOJICA, W.; ARTERBURN, D.; SHUGARMAN, L.R.; HILTON, L.; SUTTORP, M.; SOLOMON, V.; SHEKELLE, P.G.; MORTON, S.C. Meta-Analysis: Pharmacologic Treatment of Obesity. *Annals of Internal Medicine*, v.142, p.532-46, 2005.

MARTINS, L.F.S.; BERGOLD, A.M.; VIANA, A.F. *Avaliação preliminar da fotoestabilidade do cloridrato de fluoxetina e da atividade antidepressiva do produto degradado*. Trabalho de Conclusão. Faculdade de Farmácia. UFRGS. Porto Alegre, 2004.

MCCMAHON, F.G.; WEINSTEIN, S.P.; ROWE, E.; ERNST, K.R.; JOHNSON, F.; FUJIOKA, K. Sibutramine is safe and effective for weight loss in obese patients whose hypertension is well controlled with angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Journal of Human Hypertension*, n.6, p.5-11, 2002.

MEDLEY. Cloridrato de sibutramina monoidratado – medicamento genérico. São Paulo, 2006. 1 f. Bula.

MOORE, J.W.; STANITSKI, C.L.; WOOD, J.L; KOTZ, J.C. *The chemical world: concepts and application*, 2nd ed, Saunders: New York, 1999. 906 p.

- NAKANISHI, K.; SOLOMON, P.H. *Infrared absorption spectroscopy*. 2nd ed, San Francisco: Holden-Day, 1977. 287p.
- NUDELMAM, N.S. *Estabilidad de medicamentos*. Buenos Aires: El Ateneo. 1975.
- OMARI, M.M.A.; ZOUBI, R.M.; KHADER, E.T.Z.; BADWAN, A.A. Effect of light and heat on the stability of montelukast in solution and in its solid state. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.45, p.465-71, 2007.
- PARFITT, K. (Ed). *Martindale – The complete drug reference*. 32nd ed. London: Pharmaceutical Press, 1999. 2315 p.
- PARK, J.H.; KIM, K.A.; PARK, P.W.; SUH, K.H.; LEE, G.S. Relative Bioavailability and Pharmacokinetics of a New Sibutramine Formulation in Healthy Male Subjects: A Randomized, Open-Label, Two-Period, Comparative Crossover Study. *Clinical Therapeutics*, v.26, n.12, p.2092-2101, 2004.
- PAVIA, D.L.; LAMPAM, G.M.; KRIZ, G.S. Introduction to spectroscopy: a guide for students of organic chemistry. 3rd ed, South Melbourne: Brooks/Cole, 2001.
- Ph. Eur. *European Pharmacopoeia*. 5. ed. France: Council of Europe, 2005.
- Ph. Eur. *Index - European Pharmacopoeia*. 6.2. ed. France: Council of Europe, 2008.<http://www.edqm.eu/medias/fichiers/Index_6th_Edition_62_English.pdf>. Acesso em 10.02.08.
- PRADO, A.G.S. Química verde, os desafios da química do novo milênio. *Química Nova*, v.26, n.5, São Paulo, 2003.
- P.R. *Vade-Mécum Brasil*, CD-ROM, 2004-2005.
- QIN, Z.H.; TAN R.; PU, L.J.; JIANG, H. Fading spectrophotometric method for determination of sibutramine hydrochloride with Congo red and its reaction mechanism. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, v.34, n.3, p.403-6, 2006.
- RADHAKRISHNA, T.; NARAYANA, C.L.; RAO, D.S.; VYAS, K. REDDY, G.O. LC method for the determination of assay and purity of sibutramine hydrochloride and its enantiomers by chiral chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v.22, p.627-639, 2000.
- RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; MOORE, P.K. *Farmacologia*. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p. 410-419, 2007.
- ROLLS, B.J.; SHIDE, D.J.; THORWART, M.L.; ULBRECHT, J.S. Sibutramine reduces food intake in non-dieting women with obesity. *Obesity Research*, v.6, n.1, p.1-11, 1998.

- SCHUH L.M.; SCHUSTER C.R.; HOPPER, J.A.; Mendel C.M. Abuse liability assessment of sibutramine, a novel weight control agent. *Psychopharmacology*, n.147, p.339-46, 2000.
- SEGALL, A.I., COLLADO, E.A.; RICCI, R.A.; PIZZORNO, M.T. Reversed-phase HPLC determination of sibutramine hydrochloride in the presence of its oxidatively-induced degradation products. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, v.26, n.6, p.977-86, 2003.
- SHABIR, A.G. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis. Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization. *Journal of Chromatography A*, v.987, p.57-66, 2003.
- SHRINER, R.L.; HERMANN, C.K.F.; MORRILL, T.C.; CURTIN, D.; FUSON, R.C. *The Systematic identification of organic compounds*. 8th ed. Hoboken: Wiley, 2004. 723 p.
- SILVERSTEIN, R.M. *Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos*. 6ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. 460 p.
- SKOOG, D.A.; HOLLER, J.F.; NIEMAN, T.A.; CARACELLI, I. Princípios de análise instrumental. 5.ed. Porto Alegre: Bookman, p. 704-12, 2002.
- SOLOMONS, T.W.G; FRYHLE, C.B. *Química orgânica*. 8. ed. Rio de Janeiro: LTC, v.2. 2005.
- SOUZA, H.G. As novas regras para a manipulação – O que diz a ANFARMAG. *Pharmacia Brasileira*. ano IX, n.47, 2005.
- SUITCHMEZIAN, V.; JESS, I.; NATHER, C. Investigations on the polymorphism and pseudopolymorphism of the glucocorticoid triamcinolone: New findings for a well-known drug. *Crystal Growth & Design*, v.7, n.1, p.69-74, 2007.
- TATRO, D. S. (Ed.). *Drug interaction facts 2006: the authority on drug interactions*. St. Louis: Facts & Comparisons, 2006.
- THEARLE, M.; ARONNE, L.J. Obesity and pharmacologic therapy. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, n.32, p.1005-24, 2003.
- TOKARSKI, E. Farmácia magistral. Tanta credibilidade, tanto crescimento. *Pharmacia Brasileira*, Brasília, v.3. n.32, p.5-9, 2002.
- TONNESEN, H.H. Photochemical degradation of components in drug formulations. Part 1: Na approach to the standardization of degradation studies. *Pharmazie*, v.46, n.4, 263-5, 1991.

TONNESEN, H. H. Formulation and stability of photolabile drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v.225, p.1-14, 2001.

USP-DI. *Drug Information for the Health Care Professional*. 25th ed. Greenwood Village : Thomson Micromedex, v.1, 2005. p. 2644-48.

USP 30. *The United States Pharmacopeia*. 30th ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2007.

USP 31. *Pharmacopeial Forum – The United States Pharmacopeia*. The Journal of Standards Development and Official Compendia Revision. Vol.34(1). Jan-Fev 2008. Disponível em <<http://www.usp.org/pdf/EN/USPNF/Vol34No1.pdf>>. Acesso em 10.02.08.

VCCLAB. Alogps 2.1 Program. *Virtual computational chemistry laboratory*. 2007. Disponível em <<http://www.vcclab.org/lab/alogps/start.html>>. Acesso em 04/02/08.

WATSON, D.G. *Pharmaceutical analysis: a textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists*. London: Churchill Livingstone, 2005. 382p.

WEINTRAUB, M.; RUBIO, A.; GOLIK, A.; BYRNE, L.; SCHEINBAUM, M.L. Sibutramine in weight control - A dose-ranging, efficacy study. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. v.50, n.3, p.330-7, 1991.

WHO. World Health Organization. *The international pharmacopoeia*. 2004.

WHO. World Health Organization. *Obesity and overweight*. 2006 a. Disponível em <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>>. Acesso em 16.02.08.

WHO. World Health Organization. *Global Database on Body Mass Index*. 2006 b. Disponível em <http://www.who.int/bmi/index.jsp?introPage=intro_3.html>. Acesso em 16.02.08.

XIAO, S.Y., LIU, Y.; CHEN H.; CHEN Z.T.; XIA Z.N. Chiral separation of sibutramine enantiomers with beta-cyclodextrin as chiral selector in high performance liquid chromatography using non-chiral column. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, v.33, n.12, p.1761-3, 2005. Resumo.

ANEXO

Quadro 14. Recomendação da quantidade de amostra a ser utilizada para análise no equipamento para determinação de água (método de Karl-Fischer), de acordo com a especificação de umidade descrita no manual do equipamento DL 37 Mettler Toledo.

Especificação do teor de água (%)	Massa de amostra
50 - 100	10 mg
10 - 50	10 - 20 mg
1 - 10	10 - 50 mg
0,1 - 1	10 - 100 mg
0,01 - 0,1	100 mg - 1,0 g
0,001 - 0,01	1,0 g - 10 g
0,0001 - 0,001	10 g - 20 g

Tabela 19. Análise de variância (ANOVA) comparando os resultados obtidos pelos seis métodos por VMNA.

Fontes de variação	gl	SQ	QM	Fcal	Ftab
Entre	5	4,7126	0,9425	2,0643*	2,51**
Dentro (Erro resíduo)	27	12,3271	0,4566		
Total	32	17,0397			

* Significativo para $p < 0,05$.

** Determinado por interpolação harmônica entre $F_{.05(5,30)}$ e $F_{.05(5,40)}$.

Tabela 20. Áreas absolutas dos picos cromatográficos obtidos para cada concentração das três curvas padrão obtidas por CLAE.

Concentração (mg/mL)	Área absoluta*	Área média \pm e.p.m.	DPR (%)
30,0	993936,72	999538,98 \pm 7590,09	1,31
	990121,69		
	1014558,55		
40,0	1322225,12	1329009,95 \pm 7954,89	1,04
	1319939,79		
	1344864,93		
50,0	1646114,87	1654399,98 \pm 4384,10	0,49
	1656056,81		
	1661028,27		
60,0	1988051,06	1995852,99 \pm 4437,68	0,38
	1996089,76		
	2003418,17		
70,0	2302827,96	2332059,86 \pm 15693,99	1,17
	2336775,03		
	2356576,60		
80,0	2628705,76	2661558,61 \pm 17328,01	1,13
	2668430,07		
	2687539,00		
90,0	2947738,02	2997001,73 \pm 25215,45	1,46
	3012291,69		
	3030975,48		

* Cada valor é correspondente à área média de três injeções.

Tabela 21. Análise de variância (ANOVA) para três curvas padrão realizadas para o método por CLAE.

Fontes de variação	gl	SQ	QM	Fcal	Ftab
Entre	6	$9,3372 \times 10^{12}$	$1,5562 \times 10^{12}$	2705,40*	4,46
a) Regressão linear	1	$9,3370 \times 10^{12}$	$9,3370 \times 10^{12}$	16231,94*	8,86
b) Desvio de linearidade	5	$2,6876 \times 10^8$	$5,3752 \times 10^7$	0,093	4,69
Dentro	14	$8,0531 \times 10^9$	$5,7522 \times 10^8$		
Total	20	$9,3453 \times 10^{12}$			

* Significativo para $p < 0,05$.**Tabela 22.** Análise de variância (ANOVA) comparando os resultados obtidos por CLAE e pelos métodos 4 e 5 por VMNA.

Fontes de variação	gl	SQ	QM	Fcal	Ftab
Entre	2	2,8019	1,4009	2,9034	3,35
Dentro (Erro resíduo)	25	12,0629	0,4825		
Total	27	14,8648			

* Significativo para $p < 0,05$.