

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**Estudo de estabilidade da cetirizina em preparações
farmacêuticas de xarope e comprimidos**

Ixis Ivette Taymes Hidalgo

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientadora:
Prof^a. Titular Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann

SÃO PAULO
2004

17957

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Produção e Controle Farmacêuticos

**Estudo de estabilidade da cetirizina em preparações
farmacêuticas de xarope e comprimidos**

Ixis Ivette Taymes Hidalgo

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientadora:
Prof.^a Titular Erika Rosa Maria Kedor-Hackmann

SÃO PAULO
2004

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Taymes Hidalgo, Ixis Ivette
T247e Estudo de estabilidade da cetirizina em preparações
farmacêuticas de xarope e comprimidos / Ixis Ivette Taymes
Hidalgo. -- São Paulo, 2004.
185 p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.
Orientador: Kedor-Hackmann, Erika Rosa Maria

1. Estabilidade : Medicamento : Análise farmacêutica
I.T. II. Kedor-Hackmann, Erika Rosa Maria, orientador.

615.19015 CDD

Ixis Ivette Taymes Hidalgo

**Estudo de estabilidade da cetirizina em preparações farmacêuticas
de xarope e comprimidos**

Comissão Julgadora
da
Tese para obtenção do grau de DOUTOR

Profa. Titular Erika Rosa Maria Kedor – Hackmann
Orientadora/ Presidente

Prof. Dr. Martin Steppe
1º. Examinador

Profa. Dra. Sheila Garcia
2º. Examinador

Profa. Dra. Telma Mary Sakuda Kaneko
3º. Examinador

Profa Titular. Maria Inês Rocha Miritello Santoro
4º. Examinador

São Paulo, 12 de janeiro de 2004.

DIOS es nuestro amparo y fortaleza, nuestro pronto auxilio en las tribulaciones. Por tanto, no temeremos, aunque la tierra sea removida, y se traspasen los montes al corazón del mar; aunque bramen y se turben sus aguas, y tiemblen los montes a causa de su braveza.

Salmos 46:1-3

*A mis papás Miguel e Yolanda; A mis hermanos Miguel y Joel;
A mis abuelos Eumelio y Rosa, por la confianza y el gran amor
que siempre me han demostrado.*

***A la Familia Alvarado Gamboa (Laboratorios Prieto S.A.),
por permitirme realizar uno de mis grandes sueños.
Muchísimas gracias.***

***À Profa. Erika Rosa Maria Kedor – Hackmann
Pela valiosa orientação, amizade e o grande incentivo,
durante minha estadia aqui no Brasil.***

AGRADECIMENTOS

À Profa. Titular María Inês R.M. Santoro, pela valiosa colaboração e confiança depositada no meu trabalho.

À Profa. Dra. Valentina Porta e os colegas do Biofar, Simone e Hedert, pelo fornecimento e ajuda na utilização do cromatógrafo líquido.

Ao Prof. Dr. Jorge Luis S. Martins pela amizade e incentivo.

À Profa. Dra. Vladi Olga Consiglieri pelo apoio, sugestões e correções.

À Profa. Dra. Maria José Vieira Fonseca pelas sugestões e correções.

À Mestre Eunice Kazue-Kano, um agradecimento especial pela ajuda incondicional.

À minha colega Elizângela Abreu Dutra, pela sua linda amizade. Muito obrigada Ly.

Aos meus amigos: Pedro Lopez Garcia, Yara Aguilar, Mônica Montenegro, Luz Estela Zetner, Profa. Dra. Maria Aurora Prado, Neide Mitsue Fujiya e Simone Marquez obrigada por sempre me levar em conta.

Aos meus colegas do laboratório: Evelyn Ojoe, Nájla M. Kassab, Fátima C. Silva, Prof. Dr. Anil Kumar Singh, Andreia C. Peraro, María Luiza, Tatiane Ramos, Clarice, Regina Celli, pelas sugestões, auxílio e amizade brindada em todo momento.

Às funcionárias Iria R. da Silva e Regina M. Rojas pela colaboração e amizade.

À funcionária Carla e Claudinéia pelo fornecimento das matérias-primas.

Às funcionárias Leila A. Bonadio e Adriana de Almeida Barreiros, da biblioteca do Conjunto das Químicas pelo auxílio e correções das Referências Bibliográficas.

À todos que de alguma forma, colaboraram para realização deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO	01
2 REVISÃO DA LITERATURA	05
2.1. Generalidades	05
2.1.1. Síntese e estrutura do dicloridrato de cetirizina	06
2.1.2. Propriedades físico-químicas	08
2.1.3. Limites de impurezas	08
2.1.4. Atividade farmacológica	10
2.1.4.1. Mecanismo de ação	10
2.1.4.2. Farmacodinâmica	10
2.1.4.3. Farmacocinética	11
2.1.5. Usos	12
2.1.6. Posologia	12
2.1.7. Contra-indicações	13
2.1.8. Reações adversas	13
2.2. Metodologia para análise do dicloridrato de cetirizina e substâncias relacionadas	14
2.2.1. Métodos de identificação	14
2.2.2. Métodos de quantificação	14
2.2.2.1. Determinação em fluidos biológicos	14
2.2.2.2. Determinação em medicamentos	16
2.2.2.2.1. Espectrofotometria no ultravioleta e visível	17
2.2.2.2.2. Espectrofluorimetria	18
2.2.2.2.3. Cromatografia líquida de alta eficiência	18
2.2.2.2.4. Cromatografia em camada delgada de alta resolução	20
2.3. Estabilidade da Forma Farmacêutica	21
2.3.1. Definição de estabilidade	22
2.3.2. Fatores que alteram a estabilidade	23

2.3.3. Determinação da estabilidade	29
2.3.3.1. Estudo de estabilidade	30
2.3.3.1.1. Estudo de estabilidade acelerada	30
2.3.3.1.2. Estudo de estabilidade de longa duração	33
2.3.3.2. Análises controle	34
2.3.3.2.1. Análises físicas e físico-químicas	34
2.3.3.2.2. Análise quantitativa	35
2.3.3.2.2.1. Método indicador de estabilidade	36
2.3.3.2.2.2. Cinética química – prazo de validade	37
2.3.3.2.2.3. Métodos estatísticos na avaliação dos ensaios de estabilidade acelerada	38
3. PROPOSIÇÃO	40
4 PARTE EXPERIMENTAL	42
4.1. Materiais	43
4.1.1. Substâncias de referência	43
4.1.2. Matérias-primas	43
4.1.3. Amostras	44
4.1.3.1. Preparação das amostras	46
4.1.3.1.1. Procedimento para preparação do xarope	46
4.1.3.1.2. Procedimento para preparação dos comprimidos	47
4.1.4. Reagentes, solventes e materiais	48
4.1.5. Aparelhos e equipamentos	49
4.2. Métodos	51
4.2.1. Análise Físico-Química	51
4.2.1.1. Identificação do dicloridrato de cetirizina	51
4.2.1.2. Caracterização da amostra de xarope	51
4.2.1.2.1. Características organolépticas	51
4.2.1.2.2. Determinação do pH	51
4.2.1.3. Caracterização das amostras de comprimidos	52
4.2.1.3.1. Características organolépticas	52
4.2.1.3.2. Determinação do peso médio	52
4.2.1.3.3. Determinação da dureza	52
4.2.2. Análise quantitativa	52
4.2.2.1. Metodologia analítica para determinação do dicloridrato	

de cetirizina na amostra de xarope	53
4.2.2.1.1. Espectrofotometria no ultravioleta	53
4.2.2.1.1.1. Estudos preliminares	53
4.2.2.1.1.2. Construção da curva de Ringbom	53
4.2.2.1.1.3. Espectrofotometria derivada no ultravioleta	54
4.2.2.1.1.3.1. Construção da curva de calibração	55
4.2.2.1.1.3.2. Pesquisa de interferentes na amostra de xarope	56
4.2.2.1.1.3.3. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope	57
4.2.2.1.1.3.4. Teste de recuperação	58
4.2.2.2. Metodologias analíticas para determinação do dicloridrato de cetirizina na amostra de comprimidos	60
4.2.2.2.1. Espectrofotometria derivada no ultravioleta	60
4.2.2.2.1.1. Construção da curva de calibração	60
4.2.2.2.1.2. Pesquisa de interferentes na amostra de comprimidos	60
4.2.2.2.1.3. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos	62
4.2.2.2.1.4. Teste de recuperação	63
4.2.2.2.1.5. Teste de dissolução	64
4.2.2.2.1.5.1. Estudos preliminares	64
4.2.2.2.1.5.2. Teste de dissolução de um único ponto	65
4.2.2.2.1.5.3. Perfil de dissolução	65
4.2.2.2.1.5.4. Avaliação do perfil de dissolução	66
4.2.2.2.2. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	66
4.2.2.2.2.1. Estudos preliminares	66
4.2.2.2.2.1.1. Determinação dos limites de detecção e limites de quantificação das substâncias de referência	68
4.2.2.2.2.2. Otimização do método por CLAE	70
4.2.2.2.2.2.1. Condições cromatográficas estabelecidas	70
4.2.2.2.2.2.2. Construção da curva de calibração	71
4.2.2.2.2.2.3. Pesquisa de interferentes na amostra de comprimidos pelo método (CLAE)	72
4.2.2.2.2.2.4. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina e	

e substâncias relacionadas nas amostras de comprimidos por CLAE	73
4.2.2.2.2.5. Teste de recuperação	74
4.2.2.2.3. Comparação estatística dos resultados obtidos pelos métodos quantitativos de espectrofotometria derivada no ultravioleta (UVD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	76
4.2.3. Estudo de estabilidade acelerada	77
4.2.3.1. Condições empregadas	77
4.2.3.1.1. Substância de referência (dicloridrato de cetirizina)	77
4.2.3.1.2. Amostra de xarope	77
4.2.3.1.3. Amostra de comprimidos	78
4.2.3.2. Análises controle	79
4.2.3.2.1. Substância de referência (dicloridrato de cetirizina)	79
4.2.3.2.1.1. Análise físico-química	79
4.2.3.2.1.1.1. Cromatografia em camada delgada	79
4.2.3.2.1.2. Análise quantitativa	80
4.2.3.2.1.2.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	80
4.2.3.2.2. Amostra de xarope	80
4.2.3.2.2.1. Análise físico-química	80
4.2.3.2.2.1.1. Características organolépticas	80
4.2.3.2.2.1.2. Determinação do pH	80
4.2.3.2.2.2. Análise quantitativa	81
4.2.3.2.2.2.1. Determinação dos parâmetros cinéticos e período de vida útil a 25°C	81
4.2.3.2.3. Amostra de comprimidos	81
4.2.3.2.3.1. Análise físico-química	81
4.2.3.2.3.1.1. Características organolépticas	81
4.2.3.2.3.1.2. Determinação do peso médio e dureza	82
4.2.3.2.3.1.3. Desempenho de dissolução da amostra de comprimidos	82
4.2.3.2.3.1.3.1. Avaliação da cinética de dissolução	82
4.2.3.2.3.2. Análise quantitativa	83
5 RESULTADOS	84

5.1. Análise físico-química	85
5.1.1. Identificação do dicloridrato de cetirizina	85
5.1.1.1. Reação de cloretos	85
5.1.1.2. Espectroscopia na região do infravermelho	85
5.1.1.3. Espectrofotometria na região do ultravioleta	87
5.1.1.4. Cromatografia em camada delgada	88
5.1.1.5. Cromatografia líquida de alta eficiência	89
5.1.2. Caracterização da amostra de xarope	90
5.1.2.1. Características organolépticas	90
5.1.2.2. Determinação do pH	90
5.1.3. Caracterização das amostras de comprimidos	90
5.1.3.1. Características organolépticas	90
5.1.3.2. Determinação do peso médio	90
5.1.3.3. Determinação da dureza	91
5.2. Análise quantitativa	92
5.2.1. Metodologia analítica para determinação do dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope	92
5.2.1.1. Espectrofotometria no ultravioleta	92
5.2.1.1.1. Curva de Ringbom	92
5.2.1.2. Espectrofotometria derivada no ultravioleta	94
5.2.1.2.1. Curva de calibração	95
5.2.1.2.2. Pesquisa de interferentes na amostra de xarope	97
5.2.1.2.3. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope	99
5.2.1.2.4. Teste de recuperação	100
5.2.2. Metodologias analíticas para determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos	100
5.2.2.1. Espectrofotometria derivada no ultravioleta	100
5.2.2.1.1. Curva de calibração	100
5.2.2.1.2. Pesquisa de interferentes na amostra de comprimidos	103
5.2.2.1.3. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos	104
5.2.2.1.4. Teste de recuperação	106

5.2.2.1.5. Teste de dissolução	107
5.2.2.1.5.1. Teste de dissolução de um único ponto	107
5.2.2.1.5.2. Perfil de dissolução	108
5.2.2.1.5.2.1. Avaliação do perfil de dissolução	110
5.2.2.2. Cromatografia líquida de alta eficiência	111
5.2.2.2.1. Estudos preliminares	111
5.2.2.2.1.1. Limite de detecção e limite de quantificação das substâncias de referência	115
5.2.2.2.2. Otimização do método por CLAE	116
5.2.2.2.2.1. Curva de calibração	117
5.2.2.2.2.2. Pesquisa de interferentes na amostra de comprimidos empregando método CLAE	119
5.2.2.2.2.3. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos por CLAE	121
5.2.2.2.2.4. Teste de recuperação	122
5.2.2.3. Comparação estatística dos resultados obtidos pelos métodos de espectrofotometria por derivada no ultravioleta (UVD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	124
5.3. Estudo de Estabilidade Acelerada	126
5.3.1. Substância de referência (dicloridrato de cetirizina)	126
5.3.1.1. Análise físico-química	126
5.3.1.1.1. Cromatografia em camada delgada	126
5.3.1.2. Análise quantitativa	127
5.3.1.2.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)	127
5.3.2. Amostra de xarope	128
5.3.2.1. Análise físico-química	128
5.3.2.1.1. Características organolépticas	128
5.3.2.1.2. Determinação do pH	129
5.3.2.2. Análise quantitativa	129
5.3.2.2.1. Determinação dos parâmetros cinéticos e período de vida útil a 25°C	131
5.3.3. Amostra de comprimidos	132
5.3.3.1. Análises física e físico-química	132
5.3.3.1.1. Características organolépticas	132

5.3.3.1.2. Determinação do peso médio e dureza	133
5.3.3.1.3. Desempenho de dissolução da amostra de comprimidos	134
5.3.3.1.3.1. Avaliação do perfil de dissolução	141
5.3.3.2. Análise quantitativa	143
5.3.3.2.1. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina	143
5.3.3.2.2. Determinação da porcentagem de substâncias relacionadas e produtos de degradação	144
6 DISCUSSÃO	145
6.1. Revisão	146
6.2. Métodos	148
6.2.1. Análise físico-química	148
6.2.2. Análise quantitativa	150
6.2.2.1. Espectrofotometria derivada no ultravioleta	150
6.2.2.1.1. Curva de Ringbom e de calibração	150
6.2.2.1.2. Validação da metodologia para xarope	151
6.2.2.1.3. Validação da metodologia para comprimidos	152
6.2.2.1.4. Teste de dissolução	153
6.2.2.2. Cromatografia líquida de alta eficiência	154
6.2.2.2.1. Estudos preliminares	154
6.2.2.2.2. Curva de calibração	157
6.2.2.2.3. Validação da metodologia	157
6.2.2.3. Comparação estatística	158
6.2.3. Estudo de estabilidade acelerada	158
6.2.3.1. Substância de referência (dicloridrato de cetirizina)	158
6.2.3.2. Amostra de xarope	159
6.2.3.3. Amostra de comprimidos	161
7. Conclusões	164
8. Referências Bibliográficas	166

Lista de Figuras

Figura 1:	Síntese do dicloridrato de cetirizina	07
Figura 2:	Espectro do dicloridrato de cetirizina na região do infravermelho.	86
Figura 3:	Espectro de absorção no ultravioleta da solução de dicloridrato de cetirizina (20,0 µg/mL).	87
Figura 4:	Comparação cromatográfica do dicloridrato de cetirizina empregado como substância de referência (I) e outras duas matérias-primas de dicloridrato de cetirizina (II e III), provenientes de diferentes fornecedores.	88
Figura 5:	Perfil cromatográfico do dicloridrato de cetirizina (1000,0 µg/mL) empregado como substância de referência.	89
Figura 6:	Curva de Ringbom obtida pelo método espectrofotométrico no ultravioleta.	93
Figura 7:	Espectro de absorção direto e de 1ª derivada da solução de dicloridrato de cetirizina (20,0 µg/mL) em ácido clorídrico 0,1 M.	94
Figura 8:	Curva de calibração do dicloridrato de cetirizina em HCl 0,1M, obtida pelo método espectrofotométrico por derivada a 225,80nm.	96
Figura 9:	Sobreposição de curvas de absorção no UV. Placebo, padrão, amostra de xarope simulada. Concentrações de 20,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1M.	98

- Figura 10:** Sobreposição de curvas de absorção por espectrofotometria derivada de primeira ordem. Placebo, padrão, amostra de xarope simulada. Concentrações de 20,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1M. Determinação a 225,8 nm. Método quantitativo: “zero-crossing”. 98
- Figura 11:** Curva de calibração do dicloridrato de cetirizina em HCl 0,1M, obtida pelo método espectrofotométrico por derivada a 239,80nm. 102
- Figura 12:** Sobreposição de curvas de absorção no ultravioleta. Placebo, padrão, amostra de comprimidos simulada. Concentrações de 20,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1M. 103
- Figura 13:** Sobreposição de curvas de absorção por espectrofotometria derivada de primeira ordem. Placebo, padrão, amostra de comprimidos simulada. Concentrações de 20,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1 M. 104
- Figura 14:** Perfis de dissolução do dicloridrato de cetirizina a partir da amostra simulada e comercial A, em HCl 0,1 M, velocidade de agitação 50 rpm. Os valores correspondem à media de doze determinações. 109
- Figura 15:** Cromatograma do dicloridrato de cetirizina ($t_r=3,57$ min) e do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina ($t_r=3,75$ min) em concentrações de 20,0 µg/mL respectivamente, referente ao sistema 1. 111
- Figura 16:** Cromatograma do dicloridrato de cetirizina ($t_r=2,05$) e do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina ($t_r=4,78$) em

	concentrações de 20,0 µg/mL respectivamente, referente ao sistema 2.	112
Figura 17:	Cromatograma do dicloridrato de cetirizina (20,0 µg/mL) (tr=1,92) e do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina (1,0 µg/mL) (tr=2,23) referente ao sistema 3.	112
Figura 18:	Cromatograma do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina (tr= 5,75) e do dicloridrato de cetirizina (tr=6,13) em concentrações de 20,0 µg/mL respectivamente referente ao sistema 4.	113
Figura 19:	Cromatograma do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina (20,0 µg/mL) (tr=8,54) e do dicloridrato de cetirizina (20,0 µg/mL) (tr=10,34) referente ao sistema 5.	113
Figura 20:	Cromatograma do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina (tr=5,59) e do dicloridrato de cetirizina (tr= 6,64) em concentrações de 20,0 µg/mL respectivamente, referente ao sistema 6 .	114
Figura 21:	Cromatogramas do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina (Impureza) e do dicloridrato de cetirizina (A) e de uma amostra de comprimidos de 1000,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina (B), empregando método estabelecido no item 4.2.2.2.2.1.	116
Figura 22:	Curva de calibração do dicloridrato de cetirizina (500,0 a 1500,0µg/mL) empregando método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).	118
Figura 23:	Cromatogramas de interferentes na amostra de comprimidos do dicloridrato de cetirizina empregando método otimizado de CLAE.	120

- Figura 24:** Cromatogramas das soluções padrão de dicloridrato de cetirizina (1000,0 µg/mL) em metanol (1), HCl 1M (2), NaOH 1M (3) e H₂O₂ (4). 126
- Figura 25:** Cromatogramas das soluções padrão de dicloridrato de cetirizina (1000,0µg/mL) em HCl 1M (A), NaOH 1M (B) e H₂O₂ (C). 127
- Figura 26:** Amostra no tempo zero dias (a) e após degradação térmica a temperatura de 60 °C± 2 °C, no período de 90 dias (b). 128
- Figura 27:** Perfil de decaimento cinético da concentração (%) de dicloridrato de cetirizina vs tempo (dias), das amostras de xarope submetidas a armazenagem nas temperaturas de 40 °C, 50 °C e 60 °C, calculados a partir do método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta. 130
- Figura 28:** Comprimidos no tempo zero (a); comprimidos após 90 dias submetidos a 50 °C ± 2 °C com 90 % ± 5 % UR (b). 132
- Figura 29:** Perfis de dissolução da amostra de comprimidos submetidas a degradação na temperatura de 40 °C. Análises realizadas em intervalos de tempo de zero dias (A), 30 dias (B), 60 dias (C) e 90 dias (D). Os perfis correspondem ao teste de dissolução realizado com três comprimidos, respectivamente. Método analítico: Espectrofotometria derivada no ultravioleta. 136
- Figura 30:** Perfis de dissolução do dicloridrato de cetirizina a partir da amostra simulada submetida a degradação na temperatura de 40°C. Análises realizadas em intervalos de tempo de 0, 30, 60 e 90 dias. Média da determinação
-

de 3 comprimidos. Método analítico: Espectrofotometria derivada no ultravioleta. 137

Figura 31: Perfis de dissolução da amostra de comprimidos submetidos à degradação na temperatura de $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Análises realizadas em intervalos de tempo de zero dias (A), 30 dias (B), 60 dias (C) e 90 dias (D). O perfil corresponde ao teste de dissolução realizado a três comprimidos respectivamente. Método analítico: Espectrofotometria derivada no ultravioleta. 139

Figura 32: Perfis de dissolução do dicloridrato de cetirizina a partir da amostra simulada submetida a degradação na temperatura de $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Análises realizadas em intervalos de tempo de 0, 30, 60 e 90 dias. Média da determinação de 3 comprimidos. Método analítico: Espectrofotometria derivada no ultravioleta. 140

Figura 33: Valores de eficiência de dissolução (ED%), calculados a partir das áreas sob a curva (ASC) dos perfis de dissolução dos comprimidos expostos às condições de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, nos períodos de 0, 30, 60 e 90 dias. 142

Lista de Quadros e Tabelas

Quadro 1:	Impurezas aceitas do dicloridrato de cetirizina, estipuladas pela Farmacopéia Européia, 4 ed.	09
Tabela 1:	Parâmetros empregados para determinação do dicloridrato de cetirizina em fluidos biológicos humanos aplicando CLAE.	15
Tabela 2:	Tipos de estabilidades reconhecidas pela Farmacopéia Americana XXV edição.	23
Tabela 3:	Procedimento para execução do teste de recuperação na amostra de xarope.	59
Tabela 4:	Sistemas cromatográficos testados para separação do dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1- [(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina.	67
Tabela 5:	Procedimento para execução do teste de recuperação nas amostras de comprimidos.	75
Tabela 6:	Resultados das determinações do peso das amostras simulada e comerciais.	91
Tabela 7:	Resultados das determinações da dureza das amostras simulada e comerciais.	91
Tabela 8:	Resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom do dicloridrato de cetirizina em HCL 0,1 M pelo método espectrofotométrico direto a 231nm. Intervalo de concentração 4,0 a 80,0 µg/mL.	92
Tabela 9:	Absorbâncias e $\Delta A/\Delta\lambda$ obtidas na determinação da curva	

	de calibração do dicloridrato cetirizina em HCl 0,1 M. Intervalo de concentração de 5,0 a 30,0 µg/mL.	95
Tabela 10:	Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta, com determinação a 225,80 nm. Intervalo de concentração 5,0 a 30,0 µg/mL.	97
Tabela 11:	Resultados obtidos na determinação do teor de dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta. Leituras em 225,80 nm.	99
Tabela 12:	Resultados estatísticos obtidos na determinação do dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta.	99
Tabela 13:	Resultados da recuperação do dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta da amostra de xarope. Método "zero-crossing" com determinação em 225,80 nm.	100
Tabela 14:	Absorbâncias e $\Delta A/\Delta\lambda$ obtidas na determinação da curva de calibração do dicloridrato cetirizina para determinação das amostras de comprimidos. Intervalo de concentração de 5,0 a 30,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina em HCl 0,1M.	101
Tabela 15:	Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta, com determinação a 239,80 nm. Intervalo de concentração de 5,0 a 30,0 µg/mL.	102

Tabela 16:	Resultados obtidos na determinação do teor de dicloridrato de cetirizina na amostra de comprimidos pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta. Leituras em 239,80 nm.	105
Tabela 17:	Resultados estatísticos obtidos na determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta.	105
Tabela 18:	Resultados da recuperação do dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta das amostras de comprimidos. Método zero-pico com determinação em 239,80 nm.	106
Tabela 19:	Porcentagem de dicloridrato de cetirizina dissolvida a partir da amostra simulada e amostra comercial A, empregando método por espectrofotometria derivada no ultravioleta.	107
Tabela 20:	Porcentagens de dicloridrato de cetirizina dissolvida em função do tempo, a partir das amostras simulada e comercial A.	108
Tabela 21:	Eficiência de dissolução (ED%) e parâmetros cinéticos obtidos a partir das equações da reta determinados pelo modelo de primeira ordem do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos simulada e comercial A.	110
Tabela 22:	Resultados obtidos na determinação dos limites de detecção e quantificação do dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina, pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência.	115

Tabela 23:	Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina pelo método cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Detecção a 230nm.	117
Tabela 24:	Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência. Detecção a 230nm.	118
Tabela 25:	Resultados obtidos na determinação do teor de dicloridrato de cetirizina e percentuais de substâncias relacionadas nas amostras simulada e comerciais (A e B), pelo método indicador de estabilidade por CLAE.	121
Tabela 26:	Análise estatística dos resultados obtidos na determinação do dicloridrato de cetirizina em comprimidos: amostras simulada e comerciais (A e B).	122
Tabela 27:	Resultados obtidos no teste de recuperação do dicloridrato de cetirizina pelo método indicador de estabilidade (CLAE) das amostras simulada e comerciais (A e B).	123
Tabela 28:	Resultados experimentais obtidos a partir da determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras simulada e comerciais (A e B).	124
Tabela 29:	Resultados obtidos na comparação da exatidão dos métodos propostos (UVD e CLAE) para a determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras simulada e comerciais (A e B).	125

Tabela 30:	Resultados obtidos na comparação da precisão dos métodos propostos (UVD e CLAE) para a determinação do diclonidrato de cetirizina nas amostras simulada e comerciais (A e B).	125
Tabela 31:	Varição do pH no decorrer do estudo de estabilidade da amostra de xarope, nas diferentes temperaturas submetidas.	129
Tabela 32:	Valores obtidos na determinação por espectrofotometria derivada no ultravioleta da amostra de xarope de diclonidrato de cetirizina submetida às temperaturas de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.	130
Tabela 33:	Parâmetros calculados de acordo como as equações de cinética química de zero ordem, a partir dos dados obtidos nas determinações da amostra de xarope nas temperaturas de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ com o método de espectrofotometria por derivada no ultravioleta.	131
Tabela 34:	Determinação do peso médio e dureza da amostra de comprimidos no decorrer do estudo de estabilidade.	133
Tabela 35 :	Determinação do peso médio e dureza da amostra de comprimidos, submetida à degradação térmica no decorrer do estudo de estabilidade em diferentes temperaturas.	134
Tabela 36:	Porcentagem de diclonidrato de cetirizina dissolvida em função do tempo na amostra de comprimidos submetida a degradação na temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Intervalos de análise 0, 30, 60 e 90 dias.	135

Tabela 37:	Porcentagem de dicloridrato de cetirizina dissolvido em função do tempo, a partir da amostra simulada, submetida à degradação na temperatura de 50 °C. Intervalos de análise 0, 30, 60 e 90 dias. Método analítico: espectrofotometria por derivada no ultravioleta.	138
Tabela 38:	Resultados do estudo de regressão, aplicando cinética de zero ordem e cinética de primeira ordem, aos perfis de dissolução das amostras de comprimidos submetidas às temperaturas de 40 °C ± 2 °C e 50 °C ± 2 °C.	141
Tabela 39:	Parâmetros obtidos a partir das equações das retas determinadas dos modelos cinéticos aplicados nas amostras de comprimidos submetidas a degradação térmica nas temperaturas de 40 °C ± 2 °C e 50 °C ± 2 °C, nos períodos de 0, 30, 60 e 90 dias.	141
Tabela 40:	Porcentagem de eficiência de dissolução (ED%), calculados a partir da área sob a curva dos perfis de dissolução das amostras simuladas de comprimidos submetidas à degradação térmica de 40 °C e 50 °C nos períodos de 0, 30, 60 e 90 dias.	142
Tabela 41:	Valores experimentais obtidos no estudo de estabilidade das amostras de comprimidos, nos intervalos de 0, 30, 60, 90 e 180 dias nas condições de 40 °C ± 2 °C/ 75 % ± 5 % e 50 °C ± 2 °C/ 90 % ± 5 %.	143
Tabela 42:	Porcentagens totais de substâncias relacionadas e produto de degradação oxidativo, das amostras simuladas de comprimidos submetidas a condições de 40 °C ± 2 °C/ 75 % ± 5 % e 50 °C ± 2 °C/ 90 % ± 5 % pelo método indicador de estabilidade por CLAE.	144

Lista de Abreviaturas e Siglas

OMS	Organização Mundial da Saúde
FDA	Food and Drug Administration
CPMP	Committee for Proprietary Medicinal Products
ICH	International Conference on Harmonization
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG	Cromatografia gasosa
EC	Eletroforese capilar
EM	Espectrometria de massa
IV	Infravermelho
°C	Graus centígrados
a	Intercepto
cm	Centímetro
DP	Desvio padrão
ED%	Eficiência de dissolução (%)
F	Teste F
I	Inclinação
mg	Miligrama
min	Minuto
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
µg	Micrograma
µL	Microlitro
µm	Micrômetro
r	Coefficiente de correlação
%RSD	Desvio padrão relativo
s	Segundo
Se	Erro padrão da estimativa relativo
t	Teste t
t_{50%}	Meia vida de dissolução
t_{85%}	Tempo médio para dissolução de 85% do fármaco
kg	Kilograma

kgf	Kilogramas por força
v/v	Volume / volume
Rs	Resolução
pH	Logaritmo negativo da atividade do íon hidrogênio
pka	Logaritmo negativo da constante de dissociação do tampão
UV	Ultravioleta
UVD	Ultravioleta derivada
UR	Umidade relativa
nm	Nanômetro
M	Mol/L
g	Gramas
mL	Mililitro
ng	Nanograma

The text is extremely faint and illegible, appearing to be a series of lines of text that have been scanned with very low contrast or are otherwise obscured. It seems to contain several paragraphs of content, but the individual words and sentences cannot be discerned.

RESUMO

O dicloridrato de cetirizina é um anti-histamínico de segunda geração, indicado no tratamento e profilaxia de diversos quadros de alergias. O presente estudo avaliou a estabilidade física e química do dicloridrato de cetirizina em preparações de xarope e comprimidos. Para a amostra de xarope foi padronizado e validado um método por espectrofotometria de primeira derivada no ultravioleta, utilizando o ponto de anulação dos parabens a 225,80nm para determinação quantitativa. A amostra de xarope recém preparada apresentou teor de 103,0%, o qual diminui em 30% no período de 180 dias na condição de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Aplicando a equação de Arrhenius, o tempo de vida útil calculado com base na cinética de zero ordem, apresentou o resultado de 3,2 anos. Para a amostra de comprimidos foi padronizado e validado um método por espectrofotometria de primeira derivada no ultravioleta (UVD), a 239,80nm. Também foi validado um método por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), empregando coluna Chromolith C₁₈, fase móvel: metanol: acetonitrila: fosfato de potássio (0.07M): ácido fosfórico (18:18:64:0,6) e vazão: 1,0mL/min, para determinação do teor de dicloridrato de cetirizina, substâncias relacionadas e produtos de degradação oxidativos. A análise de variância dos métodos analíticos para determinação do teor de dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos não demonstrou diferença significativa para um p= 95%. As amostras de comprimidos apresentaram teor inicial de 103,0% o qual diminui em 7% no período de 180 dias na condição de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ / $75\% \pm 5\%$ UR e 3,0% no período de 90 dias na condição de $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ / $90\% \pm 5\%$ UR. A análise quantitativa do dicloridrato de cetirizina durante o estudo de estabilidade acelerada mostrou que a substancia em estudo permanece completamente estável quando na forma de xarope ou comprimido. Já nas análises físico-químicas, como o desempenho de dissolução e dureza dos comprimidos, observaram-se variações significativas, chamando atenção para o cuidado que se deve ter na escolha do material de acondicionamento para garantia de proteção do medicamento.

The following text is a very faint and illegible scan of a document. It appears to be a list or a series of entries, possibly related to a technical or scientific study. The text is too light to transcribe accurately, but it seems to contain several paragraphs of information. The content is mostly illegible due to the quality of the scan.

ABSTRACT

The cetirizine dihydrochloride is an antihistaminic drug of second generation, indicated in the treatment and prophylaxis of several cases of allergies. This study validated the physic and chemical stability of the cetirizine dihydrochloride in syrups and tablets preparations. For syrup sample a first derivative spectrophotometric ultraviolet method was standardized and validated, and the quantification of the sample was in the zero-crossing point of the parabens at 225,80nm. The syrup recently prepare presented a concentration of 103,0%, which decreases in 30% in the period of 180 days with the condition of $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. With the application of the Arrhenius equation, the decrease of the concentration showed a kinetic profile of zero ordem, getting a shelf life value of 3.2 years. In the case of tablets a first derivative spectrophotometric ultraviolet method was standardized and validated, with quantity determination at 239,80nm. A high performance liquid chromatographic method was validated too, using a Chromolith C₁₈ colun, mobile phase: metanol: acetonitrile: potasium phosfate (0.07M): phosforic acid (18:18:64:0,6) and flow rate: 1.0 mL / min. This method allowed the determination of the concentration of cetirizine dihydrochloride, related substances and oxidative degradation products. The variance analysis of both methods did not show significant differences for p=95%, for the determination of cetirizine in tablets. The tablets presented concentration data of 103,4%, which decreased in 7% in the period of 180 days with $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C} / 75\% \pm 5\% \text{ RH}$ and 3,0% in the period of 90 days in the conditions of $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C} / 90\% \pm 5\%$. The quantitative analysis of the cetirizine dihydrochloride during the accelerated stability study showed that the substance when is in the form of syrup or tablet is totally stable but the physico-chemicals analysis like strength and dissolution rates presented significant differences. Comes to the attention the care needed when choosing the dispensing material that guarantee the protection of the medicament.

The first part of the book is devoted to a general introduction to the subject of the book, which is the study of the history of the world. The second part of the book is devoted to a study of the history of the world, which is the study of the history of the world.

The third part of the book is devoted to a study of the history of the world, which is the study of the history of the world. The fourth part of the book is devoted to a study of the history of the world, which is the study of the history of the world.

The fifth part of the book is devoted to a study of the history of the world, which is the study of the history of the world. The sixth part of the book is devoted to a study of the history of the world, which is the study of the history of the world.

The seventh part of the book is devoted to a study of the history of the world, which is the study of the history of the world. The eighth part of the book is devoted to a study of the history of the world, which is the study of the history of the world.

The ninth part of the book is devoted to a study of the history of the world, which is the study of the history of the world. The tenth part of the book is devoted to a study of the history of the world, which is the study of the history of the world.

INTRODUÇÃO

A cetirizina é o principal produto de degradação da hidroxizina, ansiolítico suave e anti-histamínico em doses altas. É antagonista de segunda geração do receptor H₁, do grupo das piperazinas, atravessa a barreira hematoencefálica em pequenas quantidades e nas doses recomendadas produz pouca sonolência (GENGO et al, 1987a).

Atualmente é comercializada com os nomes de Alersin® (Delta), Aletir® (Bunker), Cetrizin® (Solvay Farma), Dicloridrato de Cetirizina® (Medley), Zetaler® (UCI-Farma), Zetir® (Abbott), Zinetrin® (Stiefel), Zyrtec® (Glaxo-Smithkline). As principais apresentações farmacêuticas são xaropes de 1,0 mg/mL e comprimidos de 10,0 mg (DEF,2003/04).

Devido à diversidade de formulações comercializadas, é importante a constatação da estabilidade da substância ativa quando parte de um sistema no qual existem vários componentes de natureza química diversa (STEPPE,2000).

A previsão da estabilidade de um produto farmacêutico pode ser realizada por meio da degradação acelerada, nos quais se exagera uma determinada condição (aumento de temperatura, umidade ou alta exposição à luz, entre outros) com o propósito de observar em um tempo menor, possíveis alterações físicas ou químicas da preparação farmacêutica (HACKMANN,1989).

Para obtenção de resultados realmente confiáveis, cada uma das etapas dos testes empregados deve ser devidamente validada, por isso é necessário o emprego de metodologia específica, precisa e exata, que permita quantificar a substância ativa na presença de seus produtos de degradação sem nenhuma interferência, permitindo a determinação do período de validade da formulação com alta confiabilidade e resultados muito próximos das condições reais.

Para isso serão aplicadas metodologias químicas e físico-químicas já propostas e serão padronizadas e validadas novas metodologias como espectrofotometria na região do ultravioleta, cromatografia líquida de alta eficiência e teste de dissolução, permitindo observar o comportamento da substância através do período de exposição das formulações a condições drásticas de temperatura.

REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Generalidades

Quando se descobriu que a histamina era importante mediador químico nas reações alérgicas, a procura de substâncias que agissem como antagonistas específicos da histamina despertou grande interesse. (SILVA, 1994).

Em 1937, Bovet e Staub relataram que certos ésteres fenólicos podiam inibir algumas ações da histamina, embora os compostos originalmente desenvolvidos fossem muito tóxicos. A partir dos anos 40 começaram a aparecer os primeiros anti-histamínicos clinicamente eficientes e relativamente atóxicos. Desde então numerosos anti-histamínicos têm sido comercializados e destinados ao tratamento da rinite e outras manifestações alérgicas. (KATZUNG, 1994; SILVA, 1994).

Os anti-histamínicos são classificados segundo o modo e local de ação em: bloqueadores de receptores H_1 , comumente denominados anti-alérgicos; bloqueadores de receptores H_2 e inibidores da liberação da histamina. (BABE et al., 1996; MADDOX et al., 1987; ZANINI et al., 1989).

Os bloqueadores dos receptores H_1 exercem seu efeito mediante a inibição competitiva do grupo etilamina presente na histamina, em vista da semelhança estrutural entre várias aminas biogênicas e sendo altamente lipossolúveis atravessam a barreira hematoencefálica causando sedação e efeitos depressores do sistema nervoso central (SILVA, 1994; ZANINI et al., 1989).

Os antagonistas dos receptores H_1 , podem ser classificados de acordo com a natureza do grupo ligado ao grupamento etilamina. Assim, as principais classes incluem etanolaminas, alquilaminas, etilenodiaminas, fenotiazinas e piperazinas (KATZUNG, 1994; SILVA, 1994; ZANINI et al., 1989).

Dentro do grupo das piperazinas encontra-se o dicloridrato de cetirizina, o qual quimicamente corresponde ao dicloridrato do ácido (RS)-2-[4-[(4-clorofenil)fenilmetil]1-piperazinil]etoxi]acético (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2001).

2.1.1. Síntese e estrutura do dicloridrato de cetirizina

O dicloridrato de cetirizina é sintetizado mediante condensação do (RS) 1-(4-clorofenil)fenilmetil) piperazina (I) com acetato de metil 2-(2-cloroetoxi) (II), tratado com Na_2CO_3 a refluxo em xileno, dando como resultado, o (RS)-metil 2-[2-[4-(4-clorofenil)fenilmetil)-1- piperazinil etoxi acetato (III), o qual é hidrolizado com KOH em etanol a refluxo obtendo-se uma mistura racêmica de iguais quantidades das formas R e S do dicloridrato de cetirizina (IV) (COREY et al., 1996; MEALY et al., 1987; SNEADER, 1985; VERSTER, 2003). O dicloridrato de cetirizina (Figura 1-IV), tem fórmula molecular $\text{C}_{21}\text{H}_{25}\text{ClN}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{HCL}$ e peso molecular 461,8 (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2001).

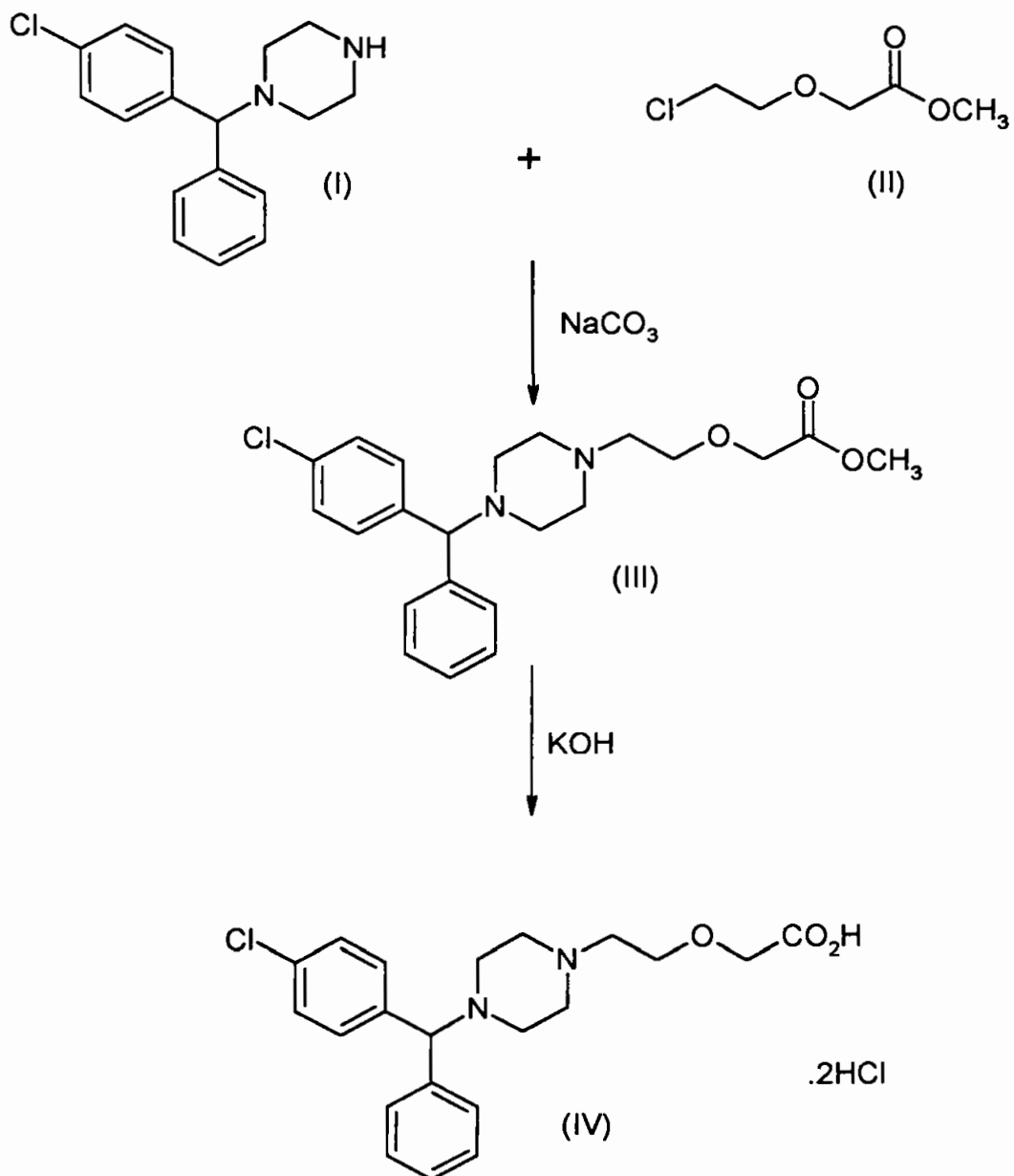


Figura 1: Síntese do dicloridrato de cetirizina: (I) (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina, (II) acetato de metil 2-(2-cloroetoxi), (III) (RS)-metil-2-[2-[4-(4-clorofenil)fenilmetil]-1- piperazinil etoxi acetato, (IV) (RS)dicloridrato de cetirizina.

2.1.2. Propriedades físico-químicas

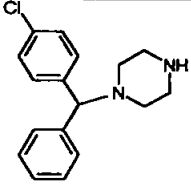
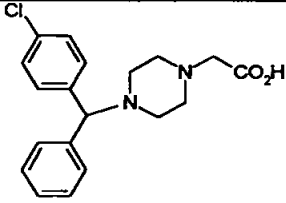
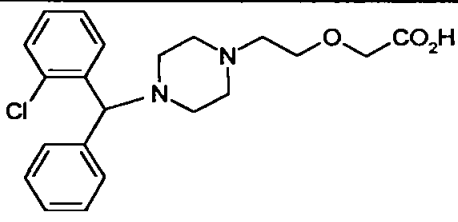
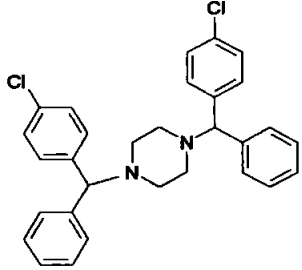
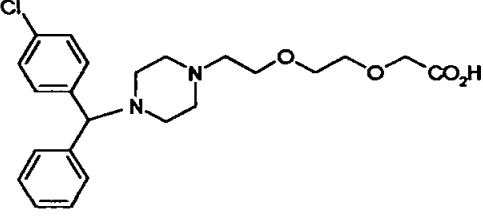
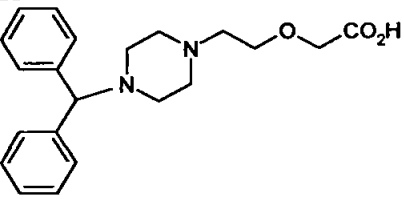
O dicloridrato de cetirizina é um pó branco, muito solúvel em água, praticamente insolúvel em acetona, cloreto de metileno e clorofórmio.

Contém no mínimo 99,0% e no máximo o equivalente a 100,5% de $C_{21}H_{25}ClN_2O_3 \cdot 2HCl$, calculado com referência à substância seca (BALTES et al., 1983; MERCK, 1996; EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2001).

2.1.3. Limites de impurezas

A quantidade de impurezas aceitas, provenientes dos processos de sínteses da matéria-prima e dos processos de fabricação do produto acabado, está estipulada na Farmacopéia Européia, 4^a.ed (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2001). Entre as impurezas relatadas estão aquelas apresentadas conforme Quadro 1.

Quadro 1: Impurezas aceitas do dicloridrato de cetirizina, estipuladas pela Farmacopéia Européia, 4 ed.

Impureza	Estrutura
A. (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina	
B. Ácido (RS)-2-[4-[(4-clorofenil)fenil metil] piperazina-1-il] acético	
C. Ácido (RS)-2-[2-[4-[(2-clorofenil) fenil metil] piperazin-1-il]etoxi] acético	
D. Bis[(4-clorofenil)fenilmetil]piperazina	
E. Ácido (RS)-2-[2-[2-4-[(4-clorofenil) fenil metil]piperazin-1-il] etoxi] acético (etoxicetirizina)	
F. Ácido (RS)-2-[2-[4-(difenilmetil) piperazin-1-il] etoxi] acético	

Mediante análise por cromatografia líquida de alta eficiência, a Farmacopéia Européia indica que, para impurezas totais, o máximo aceito é de 0,3%, sendo 0,2% do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina. (EUROPEAN PHARMACOPEIA, 2001).

2.1.4. Atividade farmacológica

2.1.4.1. Mecanismo de ação

O dicloridrato de cetirizina age como bloqueador competitivo nos receptores histaminérgicos do tipo H₁. Os antagonistas H₁ contêm um grupo etilamina substituído, semelhante à histamina.

Ao contrário da histamina que contêm um grupo amino primário e um anel aromático simples, muitos antagonistas H₁ possuem um grupo amino terciário unido por duas ou três cadeias de átomos a dois substituintes aromáticos (KOROLKOVAS, 1982; SILVA, 1994; ZANINI, 1995).

Além dos grupos aromáticos presentes na molécula de cetirizina formarem ligações adicionais com sítios inespecíficos do receptor através de ligações de Van der Waals, podem apresentar mecanismo de ação por meio da transferência de carga e ligações hidrofóbicas (KOROLKOVAS, 1982).

2.1.4.2. Farmacodinâmica

O dicloridrato de cetirizina é um anti-histamínico de segunda geração que, por apresentar características muito mais polares que os outros fármacos de primeira geração empregados no tratamento de processos alérgicos, atravessa a barreira hematoencefálica em poucas quantidades, apresentando menor sedação

e pouca atividade anticolinérgica. (CONDINO et al., 1996; DERENDORF et al., 1995; GENGO et al., 1987b).

Até 1997, pensava-se que a forma dextrógira do dicloridrato de cetirizina era efetiva para o tratamento da urticária e a forma levógira tinha efeito na rinite alérgica (CHOO et al., 2001). Estudos recentes estão demonstrando que com 5,0 mg da levocetirizina tem-se o mesmo efeito que uma dose de 10,0 mg do dicloridrato de cetirizina recomendados em qualquer caso de alergia. Já a dextrocetirizina está mostrando ser inativa (VERSTER, et al., 2003).

Estudos comparativos entre fármacos de segunda geração de anti-histamínicos tem mostrado que 5,0 mg da levocetirizina são muito mais potentes na inibição de processos inflamatórios alérgicos do que 180,0 mg de fexofenadina; 10,0 mg de mizolastina; 20,0 mg de ebastina e 10,0 mg de loratidina (VERSTER, et al., 2003).

2.1.4.3. Farmacocinética

O dicloridrato de cetirizina, após administração, é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal. A concentração máxima encontrada no plasma é alcançada cerca de uma hora após sua administração. Sua alta afinidade pelas proteínas plasmáticas permite meia vida de 7 a 11 horas em adultos saudáveis, 7 horas em crianças, 12 horas em idosos e 21 horas em adultos com insuficiência renal (DERENDORF et al., 1995; RICHARDS et al., 1990; SIMONS, 2002).

A cetirizina é uma exceção entre os anti-histamínicos de segunda geração uma vez que não é metabolizada pelo citocromo P450 e é principalmente excretada na urina (DERENDORF et al., 1995).

WOOD e colaboradores estudaram o metabolismo e a farmacocinética da cetirizina em seres humanos, confirmando dados anteriores, além disso,

verificaram que 60% da cetirizina é excretada na urina sem alterações nas primeiras 24 horas, 10% nas fezes e o restante nos dias seguintes, por via renal (NICHOLSON et al., 1998; SIMONS, 2002; WOOD, et al., 1987).

Estudos recentes mostram que a levocetirizina apresenta as mesmas características farmacocinéticas, já a dextrocetirizina apresenta vida média de 6 minutos, o que mostra a pouca interação com o receptor e a ineficiência nos sintomas da alergia (VERSTER et al., 2003).

2.1.5. Usos

O dicloridrato de cetirizina é indicado:

- no tratamento e profilaxia de rinite (alérgica ou vasomotora) (FROSSARD et al., 1998; HAYE et al., 1998; HORAK et al., 1998; LANZ et al., 1998; WARNER, 2001; WASSERMAN et al., 1991);
- conjuntivite alérgica (KANTAR, 1998);
- no tratamento de prurido e urticária crônica idiopática (BRENEMAN et al., 1996; GROB et al., 1998; HENZ et al., 1998; JUHLIN et al., 1987; SIMONS, 2002);
- asma bronquial (BRIK et al., 1987; DEF, 2003/04; RICHARDS et al., 1990; WARNER, 2001; ZANINI, 1995);
- utilizado como tratamento adjuvante na reação anafilática (DEF, 2003/04; RICHARDS et al., 1990; ZANINI, 1995);
- adjuvante na meningite asséptica secundária (JOLLES et al., 1998).

2.1.6. Posologia

Recomendam-se de 5,0 a 10,0 mg por dia, via oral; as doses podem ser aumentadas até 20,0 mg por dia, dependendo da gravidade dos sintomas e

resposta do paciente (DEF,2003/04; RICHARDS et al., 1990; SPENCER et al., 1993; USPDI, 1995; ZANINI, 1995).

Crianças de 2 a 6 anos 5,0 mg por dia, via oral; ou 2,5 mg duas vezes ao dia; e crianças de 6 a 11 anos 10,0 mg por dia, via oral; ou 5,0 mg duas vezes ao dia (DEF,2003/04; MARTINDALE, 1993; PARIENTE-KHAYAT et al., 1995; SPICAK, et al., 1997; USPDI, 1995).

Recomenda-se uma dose de 5,0 mg por dia para pacientes com insuficiência renal (DEF,2003/04; MARTINDALE, 1993; RICHARDS et al., 1990; SPENCER et al., 1993; USPDI, 1995; ZANINI, 1995). Para indivíduos idosos mais sensíveis aos efeitos da droga, recomenda-se que as doses sejam ajustadas (DEF, 2003/04; RICHARDS et al., 1990; SPENCER et al., 1993; USPDI, 1995; ZANINI, 1995).

2.1.7. Contra-indicações

A cetirizina não deve ser utilizada no caso de hipersensibilidade a alguns dos componentes da preparação, durante períodos de amamentação (DERENDORF et al., 1995) e durante o primeiro trimestre de gravidez. É considerada pela FDA como risco de categoria B quando administrada durante a gravidez (USPDI, 1995, DUBUSKE, 2001).

2.1.8. Reações adversas

Podem ocorrer ocasionalmente: leve sonolência (DUBUSKE, 2001; NICHOLSON et al., 1998), aumento da sensibilidade da pele à luz solar; aumento da sudorese; anorexia; zumbido; tonturas; exantema; desconforto ou dores estomacais; discrasia sangüínea e reação paradoxal de excitação (pesadelos, irritabilidade, inquietação e excitação anormal) (RICHARDS et al., 1990; SPENCER et al., 1993; USPDI, 1995; ZANINI, 1995).

2.2. Metodologia para análise do dicloridrato de cetirizina e substâncias relacionadas

2.2.1. Métodos de identificação

A Farmacopéia Européia 4^aed. indica como principais métodos de identificação para o dicloridrato de cetirizina na forma de matéria-prima: a espectroscopia no infravermelho; a reação com nitrato de prata para verificar a presença de cloretos; a espectrofotometria em ultravioleta, com absorção máxima a 231 nm, a cromatografia em camada delgada, empregando fase móvel de cloreto de metileno/metanol/amônia (90:10:1 v/v) com revelação a 254 nm e um método titrimétrico, no qual cada mL de hidróxido de sódio 0,1M corresponde a 15,39 mg de $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$. (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2001).

2.2.2. Métodos de quantificação

Até 1999 a maioria dos trabalhos científicos referentes ao dicloridrato de cetirizina, encontrados na literatura, eram de caráter biológico, como determinações em urina, plasma e soro. Já nos últimos 4 anos a quantidade de trabalhos relacionados a determinações quantitativas em formas farmacêuticas aumentou significativamente.

2.2.2.1. Determinação em fluidos biológicos

O método para determinação em fluidos biológicos mais empregado é a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A Tabela 1 apresenta os parâmetros envolvidos nas diferentes determinações em fluidos biológicos humanos.

Tabela 1: Parâmetros empregados para determinação do dicloridrato de cetirizina em fluidos biológicos humanos aplicando CLAE.

Tipo de fluido	Fase móvel	Coluna	Deteção	Ref.
Soro	Acetonitrila: Ácido Fórmico 0,2% (44:56)	Phenomenex Luna® C ₈ (5μ, 150 x 2,1 mm)	Espectrometria de massa	DE JAGER et al., 2002.
	Metanol: tampão fosfato 30 mM. Sistema de eluição por gradiente	Watrex ® C ₁₈ (150 x 3,2mm)	UV 232 nm	MACEK et al., 1999.
	Acetonitrila: Metanol: tampão fosfato 0,05M (33:9:58, v/v)	Spherisorb® 50DS-2 (25cm x 4,6mm I.D.)	UV 211nm	MONCRIEF, 1992.
	Acetonitrila: tampão fosfato 13mM (39:61) pH 2,8	Novapak® C ₁₈ (150 x 3,9mm)	UV 230nm	ZAATER et al., 2000.
Urina	Fosfato de tetrabutil amônio:metanol: traidrofurano (33:65:2, v/v)	Spherisorb® 50DS-2 (25cm x 4,6mm I.D.)	UV 230nm	ROSSEEL et al., 1991.

Também foi encontrada na literatura a aplicação da cromatografia líquida de alta eficiência na determinação estéreo-seletiva do dicloridrato de cetirizina em plasma de ratos, empregando coluna Regis® AGP (15cm x 4,0mm), fase móvel:

tampão fosfato 10mM: acetonitrila (96:4, v/v) pH 7,0 e detecção a 230nm (CHOI et al., 2000) e como método quantitativo em um estudo de bioequivalência de amostras comerciais (MUSCARA et al., 1995).

Foi também relatado um método por cromatografia a gás para determinação do dicloridrato de cetirizina em plasma humano; a técnica envolve esterificação e detecção mediante ionização de chama (BALTES et al., 1988).

2.2.2.2. Determinação em medicamentos

Para a quantificação do dicloridrato de cetirizina em preparações farmacêuticas, não foram encontrados métodos quantitativos nos compêndios oficiais.

Porém, para a determinação de impurezas, resultantes dos processos de síntese, tanto na matéria prima quanto em preparações de comprimidos poderia ser empregado, o método por cromatografia líquida de alta eficiência recomendado pela Farmacopéia Européia 4^a ed., na qual se utiliza uma coluna de sílica gel 25 cm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno; fase móvel constituída por: acetonitrila: água: ácido sulfúrico diluído (93:6,6:0,4).

Para aceitação da substância em estudo (matéria prima ou comprimidos) o (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina não deve estar em quantidade maior que 0,2% e o total de impurezas aceitas não deve ultrapassar 0,3% (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2001).

Na literatura, foram encontrados diversos métodos para quantificação do dicloridrato de cetirizina em preparações farmacêuticas (EL WALILY et al., 1998; GARG et al., 1995; KANUMULA et al., 2001; MAHGOUB et al., 2003; MAKHIJA et al., 2001; MELWANKI et al., 2001; PARTHASARADHI REDDY et al., 1993; PAW

et al., 2002; SURYANARAYANA et al., 1992; WEISMAN et al., 2001; WEN et al., 2001).

Para impurezas, foi encontrado um método de quantificação empregando a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por espectrometria de massa (RUDAZ et al., 2003) e outro método para identificação de possíveis substâncias de degradação mediante aplicação da cromatografia em camada delgada de alta resolução (MAKHIJA et al., 2001).

2.2.2.2.1. Espectrofotometria na região do ultravioleta e visível

Para a quantificação do dicloridrato de cetirizina em preparações farmacêuticas, vários autores propuseram metodologias com pequenas variações.

PARTASARADHI e colaboradores propuseram um método simples diluindo a amostra em água ultrapurificada até concentrações apropriadas para leitura na região ultravioleta a 230 nm. A curva de calibração apresentou boa linearidade e a determinação do teor nas amostras não apresentou interferência dos excipientes (PARTHASARADHI REDDY et al., 1993).

EL WALILY e colaboradores aplicaram a primeira e segunda derivada nos espectros obtidos por espectrofotometria em ultravioleta para determinação do dicloridrato de cetirizina em comprimidos, as determinações foram realizadas a 243 nm e 233 nm, obtendo-se recuperações de 100,26% e 100,06%; respectivamente (EL WALILY et al., 1998).

MAHGOUB e colaboradores empregaram a espectrofotometria ultravioleta de primeira derivada para determinação do dicloridrato de cetirizina quando encontrado em combinação com pseudoefedrina, empregando como solvente HCl 0,1N; $\Delta\lambda$ 2 nm; quantificação a 225,4 nm para o dicloridrato de cetirizina e

268,8 nm para a pseudoefedrina, obtendo-se curvas de calibração com coeficiente de correlação de 0,9997 para os dois métodos e recuperações entre 99,2 e 100,5% para o dicloridrato de cetirizina e de 101,3 e 100,8% da pseudoefedrina (MAHGOUB et al., 2003).

Foram encontrados três métodos de determinação empregando a espectrofotometria na região do visível, baseados na formação de complexos entre o dicloridrato de cetirizina e reagentes como a púrpura de bromocresol, o azul de bromofenol e a eosina em meio ácido. As determinações foram realizadas nos comprimentos de onda de 409 nm, 414 nm e 539 nm respectivamente. As curvas de calibração para cada um dos métodos apresentaram boa linearidade. Os métodos foram comparados mediante testes de significância (t e F) apresentando ótimos resultados (GOWDA et al., 2001; GAZY et al., 2002).

2.2.2.2. Espectrofluorimetria

Empregando esta técnica foram encontrados dois trabalhos nos quais as leituras foram realizadas a 297 nm e 550 nm, após excitação em 230 nm e 310 nm respectivamente. Os valores de r estiveram na média de 0,999 e a precisão e exatidão dos métodos dentro dos limites estabelecidos (MELWANKI et al., 2001; GAZY et al., 2002).

2.2.2.3. Cromatografia líquida de alta eficiência

SURYANARAYANA e colaboradores trabalharam na determinação do dicloridrato de cetirizina em comprimidos empregando a cromatografia líquida de alta eficiência. Utilizaram coluna μ Bondapak® C₁₈ de 10 m μ de aço inoxidável com

fase móvel composta de acetonitrila: tampão fosfato de potássio (70:30, v/v); vazão 1,0 mL/min e detecção UV a 230 nm. O método apresentou precisão e exatidão dentro dos limites estabelecidos com recuperações de 99,2 a 99,7% (SURYANARAYANA et al., 1992).

EL WALILY e colaboradores empregando coluna μ Bondapak® C₁₈, fase móvel acetonitrila: tampão fosfato de potássio (0,01M) (32:68, v/v) contendo 0,1% de hidrógeno sulfato de tetrabutil amônio com ajuste do pH a 3 com ácido fosfórico; vazão de 2,0 mL/min; padrão interno ácido salicílico e detecção em ultravioleta a 230 nm, conseguiram a determinação do dicloridrato de cetirizina em comprimidos obtendo uma boa linearidade com $r=0,9999$; alta precisão e recuperação de 100,18% (EL WALILY et al., 1998).

PAW e colaboradores descrevem um método para determinação do dicloridrato de cetirizina em comprimidos, gotas e solução, empregando coluna Nova-Pak C₁₈ com detecção a 227nm; fase móvel acetonitrila: tampão fosfato 0,067M, pH 3,40 vazão de 1,5mL/min; padrão interno cetotifeno. O método apresentou boa linearidade com $r=0,999$, baixo coeficiente de variação; com valores de 0,89% para comprimidos; 0,40% para gotas e 1,16% para solução e recuperações entre 99,85 e 100,30% para comprimidos; 99,77 e 100,33% para gotas e 100,13 e 100,40% para solução (PAW et al., 2002).

WEN e colaboradores desenvolveram um método para determinação do dicloridrato de cetirizina em cápsulas, empregando coluna Lichrosorb® C₁₈ (20 cm x 4,6mm), fase móvel tampão fosfato de sódio (0,01M): acetonitrila: heptanosulfonato de sódio (0,02M) (3:2:1), vazão de 1,0 mL/min e detecção a 230 nm. As recuperações apresentaram valores médios de 99,4% e coeficiente de variação 1,0%. A metodologia foi aplicada para observar o desempenho de dissolução de cápsulas de dicloridrato de cetirizina (WEN et al., 2001).

Para a quantificação de impurezas relacionadas aos processos de sínteses e produção, RUDAZ e colaboradores, quantificaram sete substâncias (impurezas) em 20 produtos comerciais, mediante a técnica de cromatografia líquida com detecção de espectrometria de massa. Os autores indicam que métodos cromatográficos empregando detecção com UV são poucos sensíveis para determinação de quantidades tão pequenas (menores de 0,3%), como as exigidas pela Farmacopéia Européia (RUDAZ et al., 2003).

2.2.2.2.4. Cromatografia em camada delgada de alta resolução

Mediante este método, MAKHIJA e colaboradores conseguiram determinar o dicloridrato de cetirizina, o cloridrato de pseudoefedrina e identificar as substâncias de degradação. Os métodos para quantificação apresentaram boa linearidade, com valores de $r=0,9947$ para o dicloridrato de cetirizina, e $r= 0,9973$, para o cloridrato de pseudoefedrina; os coeficientes de variação apresentaram valores de 2,64 e 3,09% e as recuperações apresentaram valores médios de 99,78 e 100,46%, respectivamente (MAKHIJA et al., 2001).

Para acelerar os processos de degradação dos padrões em estudo foram empregadas soluções de ácidos, bases fortes e peróxido de hidrogênio. Para a identificação das substâncias de degradação resultantes foram aplicadas nas placas: padrões íntegros, padrões submetidos a degradação e amostras comerciais, observando que só os padrões expostos ao peróxido de hidrogênio durante 2 horas a 70 °C, apresentaram manchas adicionais. A mancha adicional provavelmente é o resultado da oxidação do átomo de carbono unido ao anel de piperazina, dando origem a um álcool. Já nas amostras comerciais testadas estas manchas adicionais não foram observadas, (MAKHIJA et al., 2001).

2.3. Estabilidade da forma farmacêutica

Pelo levantamento bibliográfico realizado constatou-se que até o momento não foram realizados estudos de estabilidade do dicloridrato de cetirizina em preparações farmacêuticas.

No trabalho realizado por MAKHIJA e colaboradores, secção 2.2.2.2.4, pode se observar, que o processo de degradação acelerado foi aplicado na substância pura (MAKHIJA et al., 2001), a qual muitas vezes pode ter comportamentos completamente diferentes de quando forma parte de um sistema, no qual existem substâncias de natureza química diversa (STEPPE, 2000).

Desde épocas antigas a estabilidade das preparações farmacêuticas foi sempre uma preocupação, assim vemos que em 1352, quando reinava na França João, o Bom, estabeleceu-se oficialmente neste país a obrigatoriedade da inspeção às boticas, onde deviam ser examinadas a qualidade das substâncias de uso farmacêutico, destruindo, se necessário, as que se revelassem velhas ou mal conservadas.(ARIAS et al., 1981; VOIGT,1982).

O atual incremento do comércio internacional, o processo de especialização de unidades produtivas e a racionalização da produção de medicamentos para atender aos princípios de produção em escala econômica, todos caracterizados pela globalização, contribuíram para que fosse considerado indispensável o conhecimento de como os princípios ativos e excipientes de uma dada forma farmacêutica são alterados, de maneira a empregar métodos de fabricação, análises e acondicionamentos adequados para mantê-la de forma íntegra (MORETTO, 1999).

Baseado neste conceito e devido a pouca informação que se tem com respeito a estabilidade do dicloridrato de cetirizina em preparações de

comprimidos e xaropes, os pontos a seguir do nosso levantamento bibliográfico, envolvem todos aqueles fatores que devem ser levados em consideração para manter e prever a estabilidade de uma determinada forma farmacêutica.

2.3.1. Definição de estabilidade

Estabilidade é definida como o período de tempo compreendido entre o momento no qual o produto está sendo fabricado até aquele em que sua potência está reduzida de não mais que 10%, desde que os produtos de degradação estejam todos seguramente identificados e seus efeitos sejam previamente reconhecidos (ARIAS et al.,1981; HACKMANN, 1989; MORETTO,1999; MUTHE,1987; VADAS,1995; FERREIRA et al., 2002).

Há cinco tipos de estabilidade reconhecidas pela Farmacopéia Americana XXV edição (USP XXV ed., 2002). A Tabela 2 apresenta cada uma delas.

Tabela 2: Tipos de estabilidades reconhecidas pela Farmacopéia Americana XXV edição.

Tipos de Estabilidades	Condições mantidas durante a vida útil do medicamento
Química	Cada ingrediente ativo mantém sua integridade e potência declarada entre os limites especificados.
Física	As propriedades físicas originais incluindo aparência, solubilidade, dureza e suspendibilidade, entre outras, são conservadas.
Microbiológica	A esterilidade ou resistência ao crescimento microbiológico é mantida de acordo com os requisitos especificados. Agentes antimicrobianos que estão presentes mantém a eficácia entre os limites especificados.
Terapêutica	O efeito terapêutico permanece inalterado.
Toxicológica	Nenhum aumento significativo ocorre na toxicidade.

2.3.2. Fatores que alteram a estabilidade da forma farmacêutica

Constitui uma preocupação séria procurar saber “porque” e “como” se alteram os componentes de uma dada preparação. A razão desta preocupação reside na necessidade de tomar medidas corretivas necessárias tentando reduzir ao mínimo o fenômeno da alteração para se poder contar com medicamentos tanto quanto possível, estáveis. (HACKMANN, 1989).

As alterações nas formas farmacêuticas podem ser rápidas ou lentas, podendo refletir ou não nas características organolépticas, levando à perda parcial, total da atividade, ou à formação de produtos cuja toxicidade seja extremamente mais elevada do que a do fármaco original. Esses processos podem ser de natureza intrínseca ou extrínseca (ARGENTI, 1976; HACKMANN, 1989; VADAS, 1995; VOIGT, 1982).

No grupo de fatores intrínsecos podemos considerar as interações químicas entre os fármacos, excipientes ou os adjuvantes, tantas vezes aceleradas pelo pH do meio, a qualidade dos recipientes, pequenas quantidades de impurezas, etc (VOIGT, 1982).

As interações químicas mais freqüentes são: hidrólise, oxido-redução e racemização. (ARIAS et al., 1981; HACKMANN, 1989; LACHMAN et al., 1986; VOIGT, 1982).

a. Hidrólise

Muitos fármacos contêm na sua molécula grupos funcionais éster ou aminas, como é o caso do dicloridrato de cetirizina (Figura 1), os quais são susceptíveis a sofrer hidrólise em meio aquoso ou por ação da umidade (ARIAS et al., 1981; HACKMANN, 1989; LACHMAN, et al., 1986; VOIGT, 1982).

Para minimizar a degradação hidrolítica dos fármacos podem ser controlados alguns fatores como: pH, observando o ponto onde a solução é mais estável, entretanto nem sempre isso é viável, sobre tudo por razões de ordem fisiológica (ARIAS et al., 1981; LACHMANN et al, 1986; VADAS, 1995).

Outra opção seria a substituição parcial ou total da água por um solvente de baixa constante dielétrica ou conservando o medicamento na forma seca (na

forma de comprimidos) ou liofilizada de maneira a ser suspenso somente no momento do uso diminuindo os processos hidrolíticos (ARIAS et al., 1981; LACHMANN et al, 1986; VADAS, 1995).

b. Oxidação-redução

Neste fenômeno químico agem como intermediários não só o oxigênio, mas, também, determinados radicais livres. A fase inicial da reação é originada pela decomposição térmica de substâncias naturalmente presentes ou adicionadas à mistura ou mesmo, provavelmente, por ação da luz.

Para que o fenômeno de auto-oxidação seja viável, é necessária somente uma pequena porção de oxigênio, que deve estar presente na fase de propagação da reação; por isso deve ser controlado o conteúdo de oxigênio na água empregada para preparação da formulação e devem ser empregados antioxidantes. O uso de um agente quelante potencializa a ação do agente antioxidante, melhorando a eficácia do mesmo. (ARIAS et al., 1981, VADAS, 1995, VOIGT, 1982).

c. Racemização

É possível, que um composto dotado de determinada atividade farmacológica a perca totalmente ao sofrer um desvio nas suas propriedades ópticas para um valor diametralmente oposto ao inicial, o que denominaríamos como racemização. Este fato é importante visto que a maioria dos compostos levógiros possuem de modo geral uma atividade terapêutica muito maior que os dextrógiros (HACKMANN, 1989; LACHMANN et al., 1986; VOIGT, 1982).

No Brasil as preparações farmacêuticas comercializadas do dicloridrato de cetirizina, contém na sua formulação a mistura racêmica deste composto. Como foi visto anteriormente no item 2.1.4, estudos recentes assinalam que a forma levógira, lançada recentemente na Europa com o nome de Xysal[®], está mostrando ser a responsável pelos efeitos farmacológicos (CHRISTOPHE et al., 2003).

Até o momento, estes estudos não mostraram que a forma dextrógira é totalmente inativa, mas se isto for demonstrado, ela também será considerada como impureza.

De maneira geral, controlando principalmente fatores de temperatura e pH, consegue-se as melhores condições para evitar o desenvolvimento dos processos de racemização nas formas farmacêuticas (HACKMANN, 1989; LACHMANN et al., 1986; VOIGT, 1982).

Ao segundo grupo responsável pela alteração da estabilidade da forma farmacêutica (fatores extrínsecos) pertencem as características provocadas pela influência do meio ambiente como:

a. Temperatura

A altas temperaturas todos os processos químicos tomam-se acelerados, uma antiga regra, proposta por Vant´Hoff, indica que por 10°C de aumento na temperatura a velocidade da reação de decomposição é duplicada, mas definitivamente esta teoria pode ser aplicada em poucos casos (GRIMM, 1985; HACKMANN, 1989; LACHMAN et al., 1986; MARTIN, 1993).

A influência da temperatura sobre a velocidade de reação de uma formulação, encontra-se assinalada na equação de Arrhenius, no entanto esta

relação nem sempre é válida quando o produto se encontra no estado sólido ou constituído por um sistema heterogêneo (ARGENTI, 1976; HACKMANN, 1989; LACHMAN et al., 1986; MARTIN, 1993; POPE,1980; VOIGT,1982).

Estando o medicamento protegido da luz e em recipiente hermeticamente fechado, este seria o principal fator a influenciar a vida útil do produto (ARGENTI,1976).

b. Umidade e gases que compõem o ar

A absorção de água e outras substâncias da atmosfera são fatores que podem levar a decomposição total do fármaco. Muitos fármacos absorvem quantidades de água suficiente para dissolverem-se completamente levando a acelerar reações de hidrólises, entre outras (HACKMANN, 1989; VOIGT, 1982).

c. Luz

Nos últimos anos a decomposição causada pela absorção da energia radiante em forma de luz, tem sido uma das maiores preocupações. Reações de degradação como óxido-redução, rearranjos na estrutura química, polimerização e outros fenômenos químicos são produzidos por exposição do fármaco à luz em um determinado comprimento de onda (MARTIN, 1993).

Recomenda-se conservação dos produtos ao abrigo da luz. No caso do vidro sugere-se recipientes de 2 mm de espessura, vidro âmbar, de maneira, que não transmita mais que 18% da luz entre 290 e 540 nm (HACKMANN,1989).

d. Outros

Dentro dos fatores extrínsecos também podemos incluir o método de manufatura e os materiais de acondicionamento empregados para elaboração da forma farmacêutica, os quais podem acelerar ou tornar mais lentos os processos de degradação. É por isso que no momento da preparação de uma determinada formulação, se os processos, as quantidades a serem preparadas e os equipamentos são diferentes, os lotes devem ser considerados como diferentes mesmo sendo da mesma formulação (POPE, 1980).

Dependendo do processo de secagem na preparação de comprimidos, a dureza física da formulação pode estar alterada. Em alguns casos, grânulos brandos resultam da secagem em suspensão de ar, já o granulado submetido ao processo de secagem nas bandejas, permanece muito mais compacto, porque perde umidade em menor grau (POPE, 1980, FERREIRA et al., 2002).

Conforme a velocidade e o grau de compressão das máquinas compressoras, as características podem ser alteradas: altas pressões promovem fratura, fusão ou mudanças no tamanho da partícula, podendo aumentar ou diminuir a superfície de reação.

Formas líquidas preparadas em tanques de aço 304 ou 316 podem ser contaminadas com íons metálicos, os quais aceleram os processos degradativos; resíduos de detergentes e de antigas preparações podem contaminar a atual preparação, por isso é imprescindível seguir procedimentos validados para limpeza dos equipamentos (POPE, 1980).

Quanto ao material de acondicionamento é necessário conhecer a composição química do material para evitar possíveis intercâmbios e reações entre a preparação farmacêutica e seu recipiente. São necessários testes

prévios de estabilidade para observar o grau de proteção contra o ambiente que um determinado material fornece (MUTHE, 1987).

2.3.3. Determinação da estabilidade em formas farmacêuticas

No ponto anterior abordamos os diferentes fatores que afetam a estabilidade da forma farmacêutica e algumas recomendações que podem ajudar a mantê-la intacta. Em seguida serão estudados os diferentes testes e métodos empregados para sua avaliação.

Os estudos para determinação da estabilidade de um medicamento originam-se na década de 50, com os trabalhos de HIGUCHI E GARRETT, os quais determinaram o período ou prazo de validade de formulações empregando estudos cinéticos (ARIAS et al., 1981; MOLLICA et al., 1978; VOIGT, 1982). Naquela época, o uso da cinética química parecia ser uma alternativa científica definitiva para a previsão do prazo de validade de todos os medicamentos, mas este tipo de determinação tem suas limitações e basicamente é empregado para substâncias puras ou dissolvidas em água. (MORETTO, 1999).

Até 1984, as metodologias de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos seguiam princípios técnicos e científicos, sem interferência de atos regulatórios emitidos por agências ou órgãos de vigilância sanitária. As empresas utilizavam metodologias próprias, juntando seus dados e informações na documentação de registro. (MORETTO, 1999).

Na atualidade, órgãos como a OMS, FDA, CPMP (Committee for Proprietary Medicinal Products), têm editado regulamentos próprios sobre o assunto (MORETTO, 1999). Na busca de uma diretriz única, a International Conference on Harmonization (ICH) preparou um documento contendo as

diretrizes sobre o estudo de estabilidade (ICH, 1994b). Lamentavelmente, até o momento muitos dos pontos contemplados, não foram discutidos com a finalidade de chegar a um acordo entre os diferentes países, ficando a critério de cada um, o protocolo para desenvolvimento destes estudos.

2.3.3.1. Estudo de estabilidade

De maneira geral, existem dois tipos de estudos de estabilidade:

Os estudos de estabilidade acelerados, nos quais as amostras são submetidas a condições ambientais exageradas, para tomar menor o tempo para prever a estabilidade da forma farmacêutica, e os estudos de longa duração, os quais são validações dos experimentos, durante e depois do prazo de validade projetado pelo estudo de estabilidade acelerado, em tempo e condições reais (ARIAS et al., 1981).

2.3.3.1.1. Estudo de estabilidade acelerada

Os estudos acelerados de estabilidade podem ser realizados mediante dois procedimentos:

- Método não isotérmico
- Método isotérmico

No método não isotérmico a amostra é submetida a um aquecimento progressivo, com velocidade e temperaturas programadas, permitindo em um único ensaio, a determinação, da energia de ativação e a constante de degradação específica em qualquer temperatura, dados necessários para o cálculo da vida útil da substância ativa na formulação (ARIAS et al., 1981; LACHMANN et al., 1986).

As vantagens deste método em relação ao método clássico são: os valores para poder determinar a estabilidade do medicamento são obtidos em uma só experiência, e em prazo não superior a um período de 24 horas. Não se requer ensaios prévios para selecionar as temperaturas empregadas no teste (ARIAS et al., 1981; LACHMANN et al., 1986).

É necessário que os dados experimentais sejam obtidos durante certo tempo, já que se a degradação for pequena, podem aparecer dificuldades na hora de determinar a ordem do processo degradativo. Nas primeiras horas o processo pode ter comportamento de uma determinada ordem, mudando esta característica após determinado período de tempo (ARIAS et al., 1981).

No método isotérmico, a substância de referência é submetida a diversas condições de estresse, como altas temperaturas e umidade, processos oxidativos, fotolíticos e hidrolíticos, para observar-se se a partir daí são formados produtos de degradação, que posteriormente deveram ser separados e identificados para serem empregados como padrões (BAKSHI, 2002; ICH, 2003a).

A amostra do medicamento é colocada no material de acondicionamento final e são escolhidas diversas condições ambientais, nas quais serão mantidas as amostras de maneira constante durante o tempo de duração da experiência. Estas características são simuladas preferivelmente por câmaras climáticas programadas para fornecer condições controladas de umidade, temperatura e luz (ARIAS et al., 1981; ICH, 2003a).

As amostras são submetidas a análises físico-química, através de todo o estudo, as quais permitem a predição do período de validade da formulação.

Para fins de estudos mundiais, o guia para Testes de Estabilidade de Substâncias e Produtos Novos da ICH, baseado na norma Técnica, Nº 863,

anexo 5, da OMS , divide o planeta em quatro grandes zonas climáticas. Recomenda para a zona IV, na qual se inclui o Brasil, que no estudo de estabilidade acelerado as amostras sejam armazenadas na condição de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C} / 75\% \pm 5\%$ de umidade relativa (UR) durante 6 meses, com frequência, das 3 primeiras análises, a cada mês e a última no período de 6 meses (ICH, 2003ac; WHO, 2 001).

Já no Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade da Resolução N°485 e na Legislação para a indústria farmacêutica do Mercosul, é especificado que o estudo de estabilidade acelerada de rotina deve ser realizado a $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 75\% \pm 5\% \text{ RH}$, durante seis meses, com análises das amostras em períodos de 0, 30, 60, 90 e 180 dias; e a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 90\% \pm 5\% \text{ RH}$ durante três meses, com análises em 0, 30, 60 e 90 dias (BRASIL, 2002b; MERCOSUL, 2000).

Para todas as especificações indica-se a amostragem de no mínimo três lotes (BRASIL, 2002b; ICH, 2003a; MERCOSUL, 2000; WHO,2001).

Para medicamentos cujo fármaco seja sensível ao calor e que requeiram armazenamento em condições alternativas de temperatura mais baixa, os estudos de estabilidade acelerada deverão ser conduzidos, no mínimo, a $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ acima da temperatura recomendada para armazenamento. Este estudo deve ser conduzido por seis meses, em condições de umidade relativa apropriadas. Outras condições são aceitas mediante justificativa (BRASIL, 2002b; MERCOSUL, 2000).

Quando o produto é acondicionado em recipientes que representam uma barreira para o vapor de água (ampola, frasco-ampola, seringas preenchidas), não há necessidade de realizar armazenamento em condições de alta umidade relativa. Baixa umidade relativa pode afetar de modo adverso produtos líquidos acondicionados em embalagens semi-permeáveis (soluções em bolsas

plásticas, gotas nasais em frascos plásticos, e semelhantes). Nestes casos o estudo de estabilidade acelerado deve ser realizado em condições de alta umidade.

Já em formas farmacêuticas sólidas em embalagens semi-permeáveis, deve-se realizar o armazenamento em condições de umidade relativa alta (BRASIL, 2002b; ICH, 2003a; MERCOSUL, 2000);

2.3.3.1.2. Estudos de estabilidade de longa duração

Os ensaios de estabilidade acelerada permitem estabelecer um período de vida útil provisório. Devem ser complementados com estudos de longa duração realizados nas condições de armazenamento determinadas para o produto (BRASIL, 2002b; MERCOSUL, 2000), visto que processos que acontecem em condições drásticas, nem sempre se repetem sob condições normais. (ARGENTI, 1976).

O guia para Testes de Estabilidade de Substâncias e Produtos Novos da ICH, indica que o estudo de estabilidade de longa duração deve ser dirigido sob as condições alternativas de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 60\% \pm 5\% \text{ RH}$ ou $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 65\% \pm 5\% \text{ RH}$, durante no mínimo 12 meses. A frequência dos ensaios será a cada 3 meses durante o primeiro trimestre, a cada seis meses durante o segundo ano e posteriormente anual. (ICH,2003a). O guia para realização de estudos de estabilidade da Resolução Nº 485, indica condições de $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 75\% \pm 5\% \text{ RH}$ e a frequência dos ensaios nos tempos de 0, 3, 6, 9, 12 meses e depois deste período, uma vez ao ano (BRASIL,2002b).

2.3.3.2. Análises controle

Como vimos no item 2.3.1, a estabilidade de uma forma farmacêutica é definida através das características físicas, químicas, microbiológicas, terapêuticas e toxicológicas, e por isso os testes a serem realizados durante o estudo de estabilidade devem avaliar cada uma destas características.

Neste estudo, nossa abordagem estará direcionada principalmente aos tipos de testes a serem realizados para avaliação das características físicas e químicas de comprimidos e xaropes.

2.3.3.2.1. Análises físicas e físico-químicas

Dentro deste grupo devemos mencionar os ensaios que dão evidência das características organolépticas. Assim, temos que tanto para comprimidos como xaropes, os principais ensaios para determinação destas características são, cor, odor, sabor, aparência, que mediante simples inspeção visual, nos dão informação do estado físico da formulação (HACKMANN, 1989; HARTMANN et al., 1982).

Para xaropes devem ser observadas características como formação de películas, precipitação de algum componente na formulação. A determinação do pH é fundamental, pois a partir deste podemos evidenciar reações de degradação, já que principalmente processos hidrolíticos estão diretamente relacionados às concentrações de íons hidroxila e íons hidrogênio. (FERREIRA et al., 2002).

Para comprimidos os principais testes são: variações de peso e dureza; friabilidade; umidade ou perda por dessecação; desintegração e dissolução (FERREIRA et al., 2002).

O teste de dissolução "invitro" empregado na medição da velocidade e a extensão da dissolução do princípio ativo de uma determinada forma farmacêutica (FERREIRA et al., 2002), nos permite observar mudanças nas propriedades físico-químicas da formulação. Processos como polimorfismo, complexação, racemização da substância ativa e seus componentes, absorção ou perda de umidade e transformações físico-químicas no revestimento entérico são refletidos no desempenho de dissolução da forma farmacêutica (BANAKAR, 1992; CARSTENSEN, 2001).

Sabe-se que, obtendo-se o perfil de dissolução, é possível avaliar mediante a cinética de dissolução, a velocidade do processo, a quantidade máxima dissolvida e os pontos nos quais podem ocorrer mudanças significativas na dissolução da forma farmacêutica em estudo (FERRAZ, 1997; SERRA 1998). Neste teste, avalia-se a quantidade de fármaco dissolvido em diferentes intervalos de tempo, obtendo-se um perfil definido por porcentagem de fármaco dissolvida versus tempo. A partir desta relação, os parâmetros cinéticos estudados são: constante de velocidade de dissolução (K), meia vida de dissolução ($t_{50\%}$), quantidade dissolvida em determinado tempo (Q_t), e eficiência de dissolução (ED%) (KAZUE-KANO, 2002).

2.3.3.2.2. Análise quantitativa

A análise quantitativa deve estabelecer se o teor da substância ativa permanece inalterado através do estudo de estabilidade. Também deve permitir a identificação de produtos que inicialmente não estavam presentes na formulação (HACKMANN, 1989).

2.3.3.2.2.1. Método indicador de estabilidade

Os métodos que permitem a identificação e determinação do princípio ativo e seus possíveis produtos de degradação, são denominados como métodos indicadores de estabilidade (BAKSHI, et al., 2002).

A literatura revela, nas últimas 3 a 4 décadas, uma grande quantidade de métodos registrados sob esta terminologia (*Indicador de Estabilidade*). Entre os métodos mais empregados, podemos mencionar os métodos titrimétricos, espectrofotométricos por derivada, os quais são vantajosos pela sua simplicidade e baixo custo, mas contém especificidade limitada (BAKSHI, et al., 2002).

Já os métodos cromatográficos, pela capacidade que tem para separar múltiplas quantidades de componentes, possuem alta exatidão e sensibilidade para detecção e determinação de substâncias ativas e pequenas quantidades de produtos de degradação. Entre eles podemos mencionar os métodos de cromatografia em camada delgada (CCD), cromatografia em camada delgada de alta resolução (CCDAR) (MAKHIJA et al., 2001), cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (CARDOZA et al., 2002; CHORNY et al., 2003), e a cromatografia a gás (CG), e (BAKSHI, et al., 2002).

Também são encontradas na literatura como métodos indicadores de estabilidade a eletroforese capilar (EC), ressonância magnética nuclear (RMN); espectrometria de massa (EM) e sistemas acoplados como CL-EM (RUDAZ, et al., 2003); CG-EM; CL-RMN e EC-EM, que além de serem técnicas de separação, nos permitem a identificação dos grupos funcionais e a determinação de produtos de degradação, sem necessidade de padrões primários (BAKSHI, et al., 2002).

O trabalho de BAKSHI e colaboradores indica os parâmetros que devem ser levados em consideração para o desenvolvimento de um método indicador específico ou seletivo de estabilidade, principalmente cromatográfico. Para otimização e validação destes métodos ele indica os guias Q2A e Q2B do ICH, Normas da FDA e a Farmacopéia Americana (USP) (BAKSHI, et al., 2002).

2.3.3.2.2. Cinética química - prazo de validade

Os estudos de cinética química em geral, fazem uma relação entre os fatores que aceleram as reações de degradação e a velocidade com que transcorrem estes processos. Determinando o teor ou a concentração inicial da substância em estudo e a diminuição desta concentração em função do tempo, toma-se possível determinar a ordem e a velocidade da reação do processo, ferramentas básicas que nos permitem a determinação do prazo de validade da formulação (ARIAS et al., 1981; LACHMAN, et al., 1986; MARTIN, 1993; VOIGT, 1982). Entretanto, para obter os resultados finais do período de vida útil, não podemos desconsiderar o estado das características físicas, toxicológicas e microbiológicas da formulação (USP XXV ed., 2002).

A pesar de muitos autores indicarem que equações de cinética química só podem ser aplicadas a processos que envolvem substâncias puras, em solução ou sistemas homogêneos, a literatura revela a grande quantidade de trabalhos aplicando este tipo de estudo para predição do prazo de validade. No trabalho de LIN foi realizada a comparação de 12 casos, dos quais oito (67%) mostraram satisfatória predição do período de validade. Em dois dos casos o valor foi subestimado e em um dos casos o período do tempo foi sobreestimado, isso quando comparados com testes realizados em tempos reais. (POPE, 1980).

Pope indica que, se a porcentagem de degradação está entre 3,6 e 10,5% para um produto mantido a uma temperatura de 45°C por três meses tem-se uma boa probabilidade de que esta formulação será estável por um período de dois anos. Com valores maiores do que 10,5% a probabilidade deste produto ser estável é muito menor, e se a degradação é menor que 3,6%, o período a ser colocado como estável também será de 2 anos.

A FDA sugere que para testes de 3 meses a temperaturas de 37- 40°C e 75%RH, o período de tempo extrapolado deve ser de 2 anos. Se estas amostras continuam disponíveis, podem ser adicionados 2 anos a mais ao prazo de validade (Total 4 anos). (POPE, 1980).

O guia para Avaliação de Dados de Estabilidade, Q1E, do ICH, indica que se durante o estudo de estabilidade acelerada, não se apresentam mudanças significativas, análises estatísticas não são necessárias, mas os resultados devem ser devidamente justificados. Em caso de calcular-se o período de vida útil da formulação, este poderá ser até duas vezes o extrapolado, não excedendo 12 meses do calculado com o estudo de longa duração. Em caso de observarem-se mudanças significativas na formulação durante o estudo acelerado, o tempo de vida útil só poderá ser calculado a partir do estudo de longa duração. (ICH, 2003b).

2.3.3.2.2.3. Métodos estatísticos na avaliação dos ensaios de estabilidade acelerada

Aspectos estatísticos estão sendo empregados para comprovar equações cinéticas propostas. CARSTENSEN e SU demonstraram que se a decomposição é menor que 10%, o que é o caso para a maioria dos estudos de estabilidade de medicamentos, as reações de zero e primeira ordem são quase

indistinguíveis resultando mais simples a aplicação da reação de zero ordem para tratamento estatístico (LACHMAN, et al., 1986; POPE, 1980).

GARRETT e MCLEOD et al. utilizaram procedimentos estatísticos para determinar o grau de confiabilidade que deve ser usado para prever a estabilidade das preparações farmacêuticas (LACHMAN, et al., 1986). DAVIES e BUDGETT, postularam a existência de 3 tipos de erros durante os estudos acelerados: variação relacionada à concentração, variação proporcional à quantidade degradada e variação independente de qualquer fato (LOPEZ et al., 1985).

Estudos recentes trabalham com base em modelos e técnicas estatísticas simples, como aplicação do teste qui-quadrado, teste F-Snedecor e ANOVA para escolha do modelo cinético, mais adequado, (GIL et al., 2001; ICH,2003b; RAMIREZ-BELTRAN et al., 1999; STEPPE, 2000).

PROPOSIÇÃO

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Este trabalho foi planejado para ser desenvolvido nas seguintes etapas:

1. Desenvolver, padronizar e validar métodos por espectrofotometria derivada na região do ultravioleta e cromatografia líquida de alta eficiência, para quantificar o dicloridrato de cetirizina em preparações farmacêuticas de xarope e comprimidos.
2. Desenvolver métodos que permitam a identificação de impurezas totais e produtos de degradação, mediante a cromatografia líquida de alta eficiência.
3. Realizar um estudo de estabilidade em preparações de xarope e comprimidos, para observar o comportamento das características físicas, químicas e físico-químicas das formulações.
4. Estabelecer o prazo de validade para as formulações estudadas.

EXPERIMENTAL

4.1. Materiais

4.1.1. Substâncias de referência

- Dicloridrato de cetirizina, matéria-prima, sem ulterior purificação, cedido por: Laboratórios Prieto S.A do Panamá. (Lote: CTZ/0330901; Teor de pureza: 99,89%).
- (RS)-1-[4-clorofenil]fenilmetil]piperazina, Padrão primário; Farmacopéia Européia (Referência: C0980651; Teor de pureza: 100,05%).

4.1.2. Matérias-primas

- Açúcar (Usina Nova América S.A.)
- Aerosil 200 (Degussa[®]; Lote: D08311D; pureza do SiO₂: 99,76%)
- Água destilada
- Álcool 98º(Companhia Nacional de Álcool)
- Avicel PH 200 (FMC Biopolymer[®]; Lote: 2107)
- Carbowax 600 (BASF AG)
- Cellactosa 80 (Meggles AG; Lote: L-9851; Pureza do lactose Monoidrato: 74,92% e pureza da celulose pulverizada: 25,03%)
- Croscarmelosa Sódica (FMC Biopolymer[®]; Lote: T962N)
- Estearato de magnésio (Mallinckrodt, Inc.; Lote: 020200801)
- Essência de cereja (Virginia Dare, Extract Co.)
- Eudragit E 100 (Degussa[®]; Lote: 8300101017; pureza: 99,8%)
- Isopropanol (Esso Standard Oil)
- Metilparabeno (Mallinckrodt Inc.; Lote: B01769; pureza: 99,39%)
- Propilparabeno (Mallinckrodt Inc; Lote A39535; pureza: 99,80%.)

- Sacarina Sódica (Suzhou-Chem USA, Inc; lote 90393; pureza: 99,75%.)
- Sorbitol (Roquette®)
- Talco (Corporation American Mineral, C.A.; Lote: 201033)

Foram empregadas matérias-primas de grau farmacêutico.

4.1.3. Amostras

As amostras empregadas na realização da pesquisa foram as seguintes:

Amostra 1: amostra simulada (xarope)

Cetirizina. 2HCl	1,0mg
Açúcar	453,6mg
Sorbitol	125,0mg
Sacarina	0,1mg
Álcool	6,7mg
Metilparabeno	0,7mg
Propilparabeno	0,3mg
Essência de cereja	0,3mg
Água destilada q.s.p.	1,0mL

Amostra 2: placebo da amostra 1 (xarope)

Açúcar	453,6mg
Sorbitol	125,0mg
Sacarina	0,1mg
Álcool	6,7mg
Metilparabeno	0,7mg
Propilparabeno	0,3mg
Essência de cereja	0,3mg
Água destilada q.s.p.	1,0mL

Amostra 3: amostra simulada (comprimidos)**- Núcleo:**

Cetirizina . 2HCl	10,00mg
Avicel® PH 200	56,60mg
Cellactosa® 80	56,60mg
Croscarmelosa sódica	3,80mg
Aerosil®	1,50mg
Estearato de magnésio	<u>1,50mg</u>
		130,00mg

Revestimento do núcleo:

Eudragit® E 100	1,90mg
Talco	0,90mg
Estearato de magnésio	0,26mg
Dióxido de titânio	0,60mg
Carbowax® 600	0,17mg
Água deionizada	0,26mg
Isopropanol	33,84mg

Amostra 4: placebo da amostra 3 (comprimidos)**Núcleo:**

Avicel® PH 200	56,60mg
Cellactosa® 80	56,60mg
Croscarmelosa sódica	3,80mg
Aerosil®	1,50mg
Estearato de magnésio	<u>1,50mg</u>
		130,00mg

Revestimento do núcleo:

Foram empregadas quantidades descritas conforme a formulação da amostra 3.

Amostra A e B: amostras comerciais (comprimidos)

Dicloridrato de cetirizina 10,0mg
Excipientes q.s.p 1 comprimido.

4.1.3.1. Preparação das amostras

A formulação simulada de xarope do dicloridrato de cetirizina foi preparada no nosso laboratório, seguindo procedimentos descritos dos Laboratórios Prieto S.A. (Panamá). Já os comprimidos simulados foram preparados, acondicionados nos Laboratórios Prieto S.A. e enviados pelo serviço de FEDEX, com prévio aviso, de serem, transportados com temperatura mantida a 25°C.

4.1.3.1.1. Procedimento para preparação do xarope simulado (Amostra 1)

1. Foi dissolvida a cetirizina em água destilada sob agitação por 5 minutos.
2. Adicionou-se a esta preparação, o açúcar e o sorbitol.
3. A sacarina foi dissolvida previamente em água destilada e adicionada à preparação.
4. Foram dissolvidos os parabenos e a essência em álcool, e a esta preparação adicionaram-se algumas gotas de água destilada, formando uma solução hidroalcolica, a qual foi adicionada à mistura.
5. A mistura total foi agitada por 5 minutos.
6. O volume foi completado com água destilada q.s. A preparação final e a agitação foi mantida por mais 5 minutos.

Todo o processo foi realizado sob constante agitação.

-Placebo (Amostra 2):

Foram seguidos os mesmos procedimentos da amostra simulada, omitindo no preparo do placebo a adição do dicloridrato de cetirizina.

4.1.3.1.2. Procedimento para preparação dos comprimidos simulados (Amostra 3)

Formulação para 500 comprimidos:

1. Foram pesados o Avicel[®] PH200, a Cellactosa[®]80, a cetirizina e a croscarmelosa sódica e transferidos para uma bolsa plástica, para homogeneização, durante 5 minutos.
2. Posteriormente foi adicionado à mesma bolsa o Aerosil[®] 200, previamente tamizado em malha 16 mesh, e o estearato de magnésio. Procedeu-se à homogeneização da mistura por mais 1 minuto.
3. Em seguida, foram ajustados na máquina compressora o peso (130,0 mg) e a dureza (6,0 – 7,0 kgf) dos comprimidos, com cellactosa[®] 80 e procedeu-se a compressão.
4. Para determinação da quantidade de suspensão necessária a preparar para o revestimento, foram levados em consideração o diâmetro e altura dos núcleos anteriormente comprimidos.
5. Foi pesado o Eudragit E[®]100 e adicionado a 175,0 g de isopropanol.
6. Em separado, foram pesados 56,1 g de isopropanol e foram adicionados, sob constante agitação, o talco, a água deionizada e o Carbowax[®] 600. Esta

suspensão depois de total homogeneização foi passada por um moinho coloidal.

7. A suspensão de revestimento preparada conforme os itens 5 e 6 foi adicionada a 215,0 g de isopropanol.

Todos estes processos foram realizados sob constante agitação.

8. A suspensão preparada de acordo com o item 7 foi aplicada nos comprimidos com ajuda de uma pistola de injeção e ar quente, dentro de uma drageadora em movimento.
9. Os comprimidos revestidos assim obtidos, foram mantidos em uma bandeja por 12 horas para secagem total.

- Placebo (Amostra 4):

Para a preparação do placebo, seguiu-se o procedimento do item anterior substituindo o dicloridrato de cetirizina pela Cellactosa® 80.

4.1.4. Reagentes, solventes e materiais

- Acetato de sódio anidro (Reagen®)
 - Acetonitrila grau cromatográfico (Merck®)
 - Ácido clorídrico R (Merck®)
 - Ácido fosfórico (Merck®)
 - Clorofórmio (Merck®)
-

- Diclorometano (Merck®)
- Filtro HV Millex 0,45 µm (Millipore®)
- Filtro HVLP 04700 0,45 µm (Millipore®)
- Fosfato de potássio monobásico (J.T. Baker®)
- Hidróxido de sódio (Cinética Química® Ltda)
- Metanol (Merck®)
- Metanol grau cromatográfico ((Merck®)
- Sílica Gel G-60 (Merck®)
- Soluções tampão pH = 4,0 e 7,0 (Digimed®).

Foram empregados solventes e reagentes grau de pureza analítico.

4.1.5. Aparelhos e equipamentos

Foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Espectrofotômetro Shimadzu® Modelo UV 1601- PC, com cubetas de quartzo e caminho ótico de 1cm.
- Cromatógrafo líquido modelo CG 480C. Loop fixo de 20,0 µL; detector UV, modelo CG 435, Integrador CG modelo 200;
- Cromatógrafo líquido Shimadzu® LC 10 AD, equipado com duas bombas de fluxo, interface CBM – 10^A, injetor automático SIL-10AD, detector de absorvância variável, modelo SPD – M10A.
- Aparelho de dissolução Nova Ética® modelo 299/6, com seis cubas;
- Coluna Chromolith® RP-18 (4µm) Merck®;
- Aparelho de ultra-som, Thornton, modelo T-14;
- Medidor de pH Digimed, modelo TE-901;
- Hidrômetro Oregon Scientific®, modelo N°TH6312;
- Balança eletrônica Gehaka modelo BG- 2000;

-
- Balança analítica Mettler – Toledo, modelo AB-204;
 - Agitador mecânico Nova Ética®, modelo 103;
 - Sistema de purificação de água Milli-Q Plus®.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. Análise físico-química

4.2.1.1. Identificação do dicloridrato de cetirizina empregado como substância de referência.

Os testes para identificação do dicloridrato de cetirizina (matéria-prima) foram realizados conforme os procedimentos descritos na Farmacopéia Européia 4ª ed. (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2001).

4.2.1.2. Caracterização da amostra de xarope

4.2.1.2.1. Características organolépticas

Foram observadas e documentadas as características de cor, odor e homogeneidade da amostra de xarope simulada recém preparada para posteriormente realizar comparações no decorrer do estudo de estabilidade.

4.2.1.2.2. Determinação do pH

O pH da amostra de xarope, após 12 horas de preparação, foi avaliado através do aparelho citado no item 4.1.5.

4.2.1.3. Caracterização das amostras de comprimidos

4.2.1.3.1. Características organolépticas

Assim como para amostra de xarope, foram observadas e documentadas as características de cor, odor e aparência nas amostras de comprimidos.

4.2.1.3.2. Determinação do peso médio

A determinação do peso médio da amostra 3 simulada e comerciais A e B, foi efetuada segundo a metodologia descrita pela Farmacopéia Americana 25ed. (USP 25, 2002).

4.2.1.3.3. Determinação da dureza

A determinação da dureza na amostra simulada 3 e comerciais A e B, foi efetuada segundo a metodologia descrita pela Farmacopéia Brasileira 4ª ed (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988).

4.2.2. Análise quantitativa

Dentro deste item realizou-se a padronização e validação dos métodos para determinação quantitativa do dicloridrato de cetinina, substâncias relacionadas e possíveis produtos de degradação, nas amostras de xarope e comprimidos.

4.2.2.1. Metodologia analítica para determinação do dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope

4.2.2.1.1. Espectrofotometria no ultravioleta

4.2.2.1.1.1. Estudos preliminares

Empregando o padrão de dicloridrato de cetirizina identificado no item 4.1.1, foram testados diferentes parâmetros, sendo escolhidos aqueles que proporcionaram as melhores condições para efetuar as leituras espectrofotométricas. Os parâmetros fixados foram os seguintes:

- a. Solvente: solução de ácido clorídrico 0,1 M;
- b. Velocidade de varredura do espectro de absorção: 500 nm/min;
- c. Assentamento das ordenadas: 0,00 - 1,00;
- d. Intervalo de varredura do espectro: 200 - 300 nm;
- e. Concentração analítica: 5,0 µg/mL e 30,0 µg/mL.

4.2.2.1.1.2. Construção da curva de Ringbom

Com o propósito de selecionar concentrações nas quais as absorbâncias apresentavam o menor erro padrão relativo, foi construída uma curva de Ringbom. Para construção desta curva, foram pesados exatamente cerca de 100,0 mg de dicloridrato de cetirizina padrão e transferidos para balão volumétrico âmbar de 50 mL; uma quantidade suficiente de HCl 0,1M foi adicionada para dissolução. Em seguida, o volume foi completado com o mesmo solvente, obtendo-se uma solução com concentração de 2000,0 µg/mL. Desta solução foi transferida uma alíquota de 25,0 mL para balão volumétrico âmbar de 250 mL e o volume foi completado com HCl 0,1M,

obtendo-se uma solução de concentração analítica de 200,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina.

Desta solução foram transferidas 20 alíquotas cujos volumes variavam de 1,0 a 20,0 mL para balões volumétricos âmbar de 50 mL. Os volumes destes balões foram completados com solução de HCl 0,1 M, obtendo-se assim soluções com intervalo de concentração variável entre 4,0 e 80,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina.

As leituras das absorvâncias foram efetuadas a 231nm, após o aparelho ter sido calibrado com solução de HCl 0,1 M, utilizado como branco. A partir dos resultados obtidos construiu-se a curva de Ringbom.

4.2.2.1.1.3. Espectrofotometria derivada no ultravioleta

A partir da curva de Ringbom foram escolhidas as concentrações entre 5,0 e 30,0 µg/mL para construção da curva de calibração.

Empregando estes espectros diretos foram realizados diversos testes para observar a possibilidade da determinação quantitativa do dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope. O método por espectrofotometria direta no ultravioleta não permite a determinação quantitativa do xarope, pelo que se procedeu a aplicação do tratamento matemático de derivação das curvas.

Para otimização do método por espectrofotometria derivada no ultravioleta foram testados os seguintes parâmetros:

Ordem derivadas de 1ª, 2ª e 3ª ordem

Velocidade de varredura: 3,800 nm/min; 500 nm/min; 300 nm/min e 200 nm/min

Intervalos de construção do espectro derivado (delta lambda): 2, 4, 8 e 16 nm

Assentamento das ordenadas: $\pm 0,01$

Método de determinação quantitativa: zero-pico e "zero-crossing".

Observando as curvas que apresentaram melhor desempenho, foram fixados os seguintes parâmetros:

- Solvente: Solução de ácido clorídrico 0,1 M;
- Ordem da derivada: 1ª ordem;
- Delta Lambda($\Delta\lambda$): 8 nm
- Velocidade de varredura: 500 nm/min
- Assentamento das ordenadas: $\pm 1,0$
- Intervalo de varredura do espectro derivado: 200-280 nm.
- Concentração analítica: 5,0 a 30,0 $\mu\text{g/mL}$.
- Método de determinação quantitativa: zero-crossing a 225,80 nm.

4.2.2.1.1.3.1 Construção da curva de calibração do método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta

A curva de calibração foi preparada a partir de uma solução estoque contendo 50,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina. Desta solução foram transferidas 6 alíquotas, cujos volumes variavam entre 5,0 e 30,0 mL para balões volumétricos âmbar de 50 mL. Os volumes destes balões foram completados com solução de ácido clorídrico 0,1 M, obtendo-se assim, soluções com intervalo de concentração de dicloridrato de cetirizina variando entre 5,0 $\mu\text{g/mL}$ e 30,0 $\mu\text{g/mL}$. Após o aparelho ter sido calibrado com solução de ácido clorídrico 0,1 M, realizou-se a varredura das soluções no intervalo entre 200 e 300 nm, empregando velocidade de varredura de 500 nm/min.

A partir destes espectros, traçaram-se as derivadas de 1ª ordem ($\Delta\lambda = 8 \text{ nm}$) e foram construídas as curvas derivadas a partir das amplitudes obtidas no comprimento de onda de 225,80 nm mediante o método quantitativo “zero-crossing”.

Foi determinado o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação para a curva derivada. Os cálculos foram efetuados pelo método dos mínimos quadrados.

4.2.2.1.1.3.2. Pesquisa de interferentes na amostra de xarope avaliada pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta

a. Preparação da solução padrão

Foram pesados exatamente, cerca de 25,0 mg de dicloridrato de cetirizina e transferidos para balão volumétrico âmbar de 250 mL. Adicionou-se q.s. de HCl 0,1M até a dissolução, completando-se o volume com o mesmo solvente. Desta solução foram transferidas alíquotas de 20,0 mL para balões volumétricos âmbar de 100 mL (triplicata), completando-se o volume com HCl 0,1M. Obtiveram-se concentrações de 20,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina.

b. Preparação da solução amostra

Foram transferidos volumes equivalentes a 20,0 mg de dicloridrato de cetirizina para balões volumétricos âmbar de 100 mL. Adicionou-se 50,0 mL de HCl 0,1 M, agitou-se por 15 minutos. Completou-se o volume com o mesmo solvente e agitou-se ainda por 10 minutos. Transferiu-se uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico âmbar de 50 mL e completou-se o volume com HCl

0,1 M. Obteve-se uma solução com concentração final de 20,0 µg/mL do dicloridrato de cetirizina.

a. Preparação da solução placebo

Para a preparação da solução do placebo foi retirada uma alíquota da amostra do xarope placebo equivalente ao veículo da amostra xarope para obter uma solução de 20,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina, e procedeu-se como no item anterior (triplicata).

Realizou-se sobreposição dos espectros das derivadas das soluções padrão, da amostra e do placebo contendo 20,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina, para determinar o comprimento de onda no qual o placebo é zerado (ponto de anulação), permitindo a determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras sem interferência.

4.2.2.1.1.3.3. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta.

a. Preparação da solução padrão

Foi utilizada como padrão, a média aritmética das leituras de três soluções do padrão, preparadas na concentração de 20,0 µg/mL, como descrito no item 4.2.2.1.1.3.2.a.

b. Preparação da solução amostra

Foi medido volume equivalente a 20,0 mg de dicloridrato de cetirizina da amostra e procedeu-se a preparação de dez soluções de 20,0 µg/mL do dicloridrato de cetirizina, conforme item 4.2.2.1.1.3.2.b. As soluções foram determinadas a 225,80 nm (*“zero-crossing”*), na primeira derivada dos espectros. Os resultados foram analisados estatisticamente.

4.2.2.1.1.3.4. Teste de recuperação

a. Preparação da solução padrão

Preparou-se a solução de dicloridrato de cetirizina na concentração de 100,0 µg/mL, conforme item 4.2.2.1.1.3.2.a.

b. Preparação da solução amostra

Foi medido volume equivalente a 10,0 mg de dicloridrato de cetirizina da amostra de xarope e transferidos para balão volumétrico âmbar de 100 mL. Adicionaram-se 50,0 mL de HCl 0,1 M, agitou-se por 15 minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Obteve-se uma solução com concentração de 100,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina.

c. Procedimento

Transferiram-se alíquotas da amostra e da solução padrão para balões volumétricos âmbar de 100 mL, conforme o procedimento, que segue na Tabela 3.

Tabela 3: Procedimento para execução do teste de recuperação na amostra de xarope.

Balões	Dicloridrato de cetirizina		Concentração final ($\mu\text{g/mL}$)
	Solução padrão 100,0 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	Solução da amostra 100,0 $\mu\text{g/mL}$ (mL)	
1	10,0	-	10,0
2	-	10,0	10,0
3	5,0	10,0	15,0
4	10,0	10,0	20,0
5	15,0	10,0	25,0

Completou-se o volume dos balões com HCl 0,1 M. Após homogeneização foram obtidos os espectros de absorção no intervalo de 200 a 300 nm, derivou-se e determinou-se as amplitudes a 225,80 nm. Foi utilizado como branco, HCl 0,1 M.

4.2.2.2. Metodologias analíticas para determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos

4.2.2.2.1. Espectrofotometria derivada no ultravioleta

4.2.2.2.1.1. Construção da curva de calibração

Empregando os parâmetros fixados no item 4.2.2.1.1.3.1, com variação na determinação quantitativa pelo método *zero pico* no comprimento de onda a 239,80 nm, foi construída a curva de calibração com concentrações de 5,0 a 30,0 µg/mL, para determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos. Também foram determinados o erro padrão da estimativa e o coeficiente de correlação da curva mediante o método dos mínimos quadrados.

4.2.2.2.1.2. Pesquisa de interferentes na amostra de comprimidos empregando o método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta

a. Preparação da solução padrão

Foram pesados exatamente, cerca de 25,0 mg de dicloridrato de cetirizina e transferidos para balão volumétrico âmbar de 25 mL. Adicionou-se q.s. de HCl 0,1 M até dissolução, completando-se o volume com o mesmo solvente. Desta solução foi transferida uma alíquota de 5,0 mL para balão volumétrico âmbar de 50 mL, completou-se o volume com HCl 0,1 M para obter uma solução com concentração de 100,0 µg/mL. Realizou-se uma última

diluição, transferindo-se alíquotas de 10,0 mL para balões volumétricos âmbar de 50 mL (triplicata). Completou-se o volume destes balões com HCL 0,1 M, obtendo-se soluções com concentrações finais de 20,0 µg/mL.

b. Preparação das soluções da amostra simulada e do placebo

Foi pesado do pó de 20 comprimidos, previamente triturados, quantidade equivalente a 5,0 mg de dicloridrato de cetirizina e transferido para balão volumétrico âmbar de 50 mL. Adicionaram-se aproximadamente 25,0 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 M e agitou-se por 15 min. O volume foi completado com o mesmo solvente obtendo-se uma solução de concentração de 100,0 µg/mL. A solução foi filtrada rejeitando-se os primeiros 5,0 mL do filtrado e desta transferiram-se alíquotas de 10,0 mL para balões volumétricos âmbar de 50 mL (triplicata). As concentrações analíticas foram de 20,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina.

Para preparação da solução placebo foi pesada quantidade equivalente do pó empregado para o preparo da amostra sem o dicloridrato de cetirizina e procedeu-se como no item anterior.

Após homogeneização das soluções preparadas nos itens a e b, e calibração do aparelho com o branco HCl 0,1 M, determinaram-se os espectros de absorção das soluções entre 200 e 300 nm e as respectivas derivadas de primeira ordem. Realizou-se a sobreposição do espectro derivado da solução padrão, da solução amostra e do placebo para observação da interferência dos excipientes na determinação.

4.2.2.2.1.3. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta

a. Preparação da solução padrão

Foi utilizado como padrão a média aritmética das leituras de três soluções padrão preparadas na concentração de 20,0 µg/mL como descrito no item 4.2.2.2.1.2.a.

b. Preparação da soluções da amostra simulada e comerciais (A e B)

As amostras simulada e comerciais de comprimidos foram preparadas em concentrações de 20,0 µg/mL de acordo com o descrito no item 4.2.2.2.1.2.b.

Foram determinadas cada uma das dez amostras a 239,80 nm empregando-se o método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta, (zero-pico). Os resultados foram analisados estatisticamente.

4.2.2.2.1.4. Teste de recuperação

a. Preparação da solução padrão

Preparou-se a solução padrão de dicloridrato de cetirizina na concentração de 100,0 µg/mL conforme no item 4.2.2.2.1.2.a.

b. Preparação das soluções amostras

Prepararam-se soluções da amostra simulada e comerciais (A e B) nas concentrações de 100,0 µg/mL conforme o descrito no item. 4.2.2.2.1.2.b.

c. Procedimento

Transferiram-se alíquotas da solução da amostra e da solução padrão para balões volumétricos âmbar de 100 mL, conforme procedimento seguido para o teste de recuperação descrito no item 4.2.2.1.1.3.4.c.

Completo-se o volume dos balões com HCl 0,1 M. Após homogeneização foram obtidos os espectros de absorção entre 200 e 300 nm. Derivou-se e determinaram-se as amplitudes na primeira derivada a 239,80 nm. Foi utilizado como branco HCl 0,1 M.

4.2.2.2.1.5. Teste de dissolução

Empregando-se o método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta para determinação quantitativa das amostras de comprimidos, foi também padronizado e validado um método de dissolução, o qual nos permitiu observar o comportamento da amostra simulada no decorrer do estudo de estabilidade.

4.2.2.2.1.5.1. Estudos preliminares

Na escolha de parâmetros que seguissem as especificações de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (BRASIL, 2003b; SKOUG et al., 1997) foram testadas as amostras simulada e comercial (A), observando-se as seguintes condições:

Meio de dissolução: HCl 0,01 M e HCl 0,1 M, pH $1,2 \pm 0,1$

Volume do meio: 1000 mL e 500 mL

Aparato: nº2 (pá)

Velocidades de agitação: 100 e 50 rpm

Tempo de coleta em um único ponto: 30 min

Tempos de coleta no perfil de dissolução: 5, 10, 15, 20, 25, 30 min.

1, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 30 min.

Método quantitativo: Espectrofotometria derivada no ultravioleta (*zero-pico*) a 239,80 nm.

Foram estabelecidos os seguintes parâmetros para a verificação do desempenho de dissolução das amostras:

- Meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 M
- Volume do meio: 500 mL

- Aparato: nº 2 (pá)
- Velocidade de agitação: 50 rpm
- Tempo de coleta de um único ponto: 30 minutos
- Tempos de coleta no perfil de dissolução: 1, 3, 6, 9, 12, 15, 20, 25 e 30 minutos.
- Metodologia quantitativa de determinação: Espectrofotometria por derivada no ultravioleta, método quantitativo: zero-pico a 239,80 nm.

4.2.2.2.1.5.2. Teste de dissolução de um único ponto

O teste de dissolução de um único ponto foi efetuado empregando condições estabelecidas no item anterior. O resultado do teste para cada amostra foi avaliado segundo as especificações da Farmacopéia Americana 25 ed. (USP 25 ed, 2001).

4.2.2.2.1.5.3. Perfil de dissolução

O perfil de dissolução foi efetuado empregando-se doze unidades de cada amostra, nas condições estabelecidas no item 4.2.2.2.1.5.1. Após a retirada de cada alíquota (10,0 mL), efetuou-se a reposição do volume, empregando-se solução de HCl 0,1 M, mantido na quarta cuba de dissolução, na mesma temperatura das demais.

Os cálculos utilizados para obter a porcentagem de dicloridrato de cetirizina dissolvido foram calculados mediante o programa Excel 2000.

4.2.2.2.1.5.4. Avaliação do perfil de dissolução

Com o objetivo de avaliar o perfil de dissolução das amostras de comprimidos simulada e comercial (A), foi calculada a eficiência de dissolução (ED%), e determinado o modelo cinético que melhor representa o perfil de dissolução. Foram calculados os parâmetros cinéticos: constante de velocidade de dissolução (K), meia vida de dissolução ($t_{50\%}$) e tempo médio para dissolução de 85% do dicloridrato de cetirizina presente nos comprimidos ($t_{85\%}$).

4.2.2.2.2. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

4.2.2.2.2.1. Estudos preliminares

Com a finalidade de determinar uma fase móvel que apresentasse uma boa separação entre o dicloridrato de cetirizina e a impureza (RS)-1- [(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina foram estudados os diferentes sistemas apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Sistemas cromatográficos testados para separação do dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1- [(4-clorofenil) fenilmetil]piperazina.

Sistema	Fase Móvel	pH	Vazão
1*	Acetonitrila: fosfato de potássio (0,01 M):ácido orto-fosfórico (3gotas), (70:30).	3,0	0,8 mL/min
2*	Acetonitrila: fosfato de potássio (0,01 M), (70:30).	5,6	0,8 mL/min
3*	Acetonitrila: fosfato de potássio (0,05 M), (70:30).	5,6	0,8 mL/min
4*	Metanol: acetonitrila: fosfato de potássio (0,05 M): ácido orto-fosfórico, (18:32:50:0,2).	3,0	1,0 mL/min
5*	Metanol: acetonitrila: fosfato de potássio (0,05 M): ácido orto-fosfórico, (18:22:60:0,6).	2,5	1,3 mL/min
6*	Metanol: acetonitrila: fosfato de potássio (0,07 M): ácido orto-fosfórico, (18:22:60:0,6).	2,5	1,3 mL/min

* O teste foi realizado em coluna Cromolith® RP 18, com detecção a 230 nm, temperatura de de 19°C± 1 °C e volume de injeção de 20 µL, cromatógrafo CG 480C.

Observando-se resoluções acima de 2,5, entre o sinal cromatográfico do dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1- [(4-clorofenil) fenilmetil]piperazina, quando aplicado o sistema 6, procedeu-se a determinação dos limites de detecção e quantificação de cada uma das substâncias em estudo. Empregando-se este sistema, foram construídas curvas de calibração para cada uns dos compostos entre concentrações de 2,0 e 10,0 µ g/mL.

4.2.2.2.1.1. Determinação dos limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ) das substâncias de referência

a . Preparação da solução tampão

Foram pesados, exatamente, 9,5263 g de fosfato de potássio monobásico, e transferidos, para balão volumétrico de 1000 mL. Adicionaram-se aproximadamente 500,0 mL de água ultrapura e agitou-se esta solução até completa dissolução. O pH foi acertado para 2,5 e em seguida completou-se o volume com água ultra pura.

b. Preparação da fase móvel

Transferiram-se, 600,0 mL da solução tampão fosfato de potássio monobásico (0,07 M), 180,0 mL de metanol e 220,0 mL de acetonitrila, para balão de 1000 mL. A mistura foi filtrada através de filtro de membrana Millipore®, modelo HVLP 0,45 μm e desgaseificada com auxílio de banho de ultra-som, por 20 minutos.

c. Preparação da solução padrão de dicloridrato de cetirizina

Pesou-se exatamente cerca de 25,0 mg de dicloridrato cetirizina e transferiu-se para balão volumétrico âmbar de 25 mL, completou-se o volume com fase móvel. Transferiu-se 1,0 mL desta solução para balão volumétrico âmbar de 10mL e completou-se o volume com fase móvel. Em seguida transferiu-se 5,0 mL desta solução para balão volumétrico âmbar de 50 mL e completou-se o volume com fase móvel (concentração final 10,0 $\mu\text{g/mL}$).

d. Preparação da solução padrão do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina

Pesou-se exatamente cerca de 25,0 mg do padrão (RS)-1- [(4-clorofenil) fenilmetil]piperazina e seguiu-se o mesmo procedimento descrito no item 4.2.2.2.1.1.c. para preparar uma solução de 10,0 µg/mL do padrão de (RS)-1- [(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina.

e. Preparação das curvas de calibração do dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1- [(4-clorofenil)fenilmetil]piperazina

A partir das soluções de 10,0 µg/mL preparadas nos itens anteriores, foram retiradas alíquotas de 2,0; 4,0; 6,0; 8,0 mL de cada uma das soluções e transferidas para balões volumétricos âmbar de 10 mL. Completaram-se os volumes com fase móvel, obtendo-se concentrações de 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; 10,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil]piperazina.

As soluções foram filtradas em filtro Millipore® de 0,45 µm, e injetadas no cromatógrafo líquido no volume de 20,0 µL e a partir da relação de áreas obtidas foram construídas as curvas de calibração, para cada uma das substâncias de referência.

Foram determinados os limites de detecção e de quantificação para o dicloridrato de cetirizina e para o (RS)-1- [(4-clorofenil) fenilmetil]piperazina, através do desvio padrão (DP) e da resposta da inclinação (I) das curvas de calibração preparadas em baixas concentrações, a partir das fórmulas $LD = 3,3(DP/I)$ e $LQ = 10(DP/I)$ para o limite de detecção e quantificação, respectivamente (CURRIE, 1999; INMAN et al., 1988; LONG et al., 1983).

4.2.2.2.2. Otimização do método por CLAE para determinação do dicloridrato de cetirizina e substâncias relacionadas.

Tomando como referência as especificações da Farmacopéia Européia 4^a ed. (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2001), para limites de impurezas aceitas nas amostras de comprimidos e a partir do limite de detecção e quantificação calculados nos itens anteriores, foram calculadas as concentrações de dicloridrato de cetirizina que permitem a detecção do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil]piperazina.

Foram preparadas e analisadas cromatograficamente concentrações de 1,0 mg/mL de dicloridrato de cetirizina, que permitem a detecção do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil]piperazina. Foi observado que as quantidades de impurezas presentes no padrão estão acima do recomendado e que empregando-se o sistema 6, não se consegue total separação entre as impurezas não identificadas e o dicloridrato de cetirizina. Por este motivo, foram modificadas as proporções de acetonitrila e tampão fosfato (0,07M) deste sistema.

4.2.2.2.2.1. Condições cromatográficas estabelecidas

O sistema cromatográfico que apresentou a melhor separação entre o dicloridrato de cetirizina e substâncias relacionadas não identificadas foi:

- Fase Móvel: metanol: acetonitrila: fosfato de potássio (0,07 M): ácido orto-fosfórico (18:18:64: 0,6)
- Vazão: 1,0 mL/min
- Coluna: Crhomolith® RP18
- Comprimento de onda para leitura: 230 nm
- Volume injetado: 20,0 µL
- Cromatografo líquido de alta eficiência: SHIMADZU
- Temperatura: 19 °C ± 1°C

4.2.2.2.2.2. Construção da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina

a. Preparação da solução tampão

A solução tampão de fosfato de potássio 0,07 M foi preparada conforme item. 4.2.2.2.2.1.1.a.

a. Preparação da fase móvel

Transferiu-se, 640,0 mL da solução tampão fosfato de potássio monobásico (0,07M), 180,0 mL de metanol e 180,0 mL de acetonitrila, para balão de 1000 mL. O pH de 2,5 da solução final foi previamente ajustado com ácido orto-fosfórico na fase aquosa. A mistura foi filtrada através de filtro de membrana Millipore , modelo HVLP 0,45 μ m e desgaseificada com auxílio de banho de ultra-som, por 20 minutos.

c. Preparação das soluções de dicloridrato de cetirizina

Com a finalidade de determinar a curva de calibração pelo método CLAE foi preparada uma solução estoque de 2500,0 μ g/mL de dicloridrato de cetirizina. Desta solução foram transferidas 5 alíquotas, cujos volumes variavam entre 2,0 e 6,0 mL para balões volumétricos âmbar de 10 mL. Os volumes destes balões foram completados com fase móvel , obtendo-se assim, soluções como intervalo de concentração de dicloridrato de cetirizina variando entre 500,0 μ g/mL e 1500,0 μ g/mL.

As soluções foram previamente filtradas em filtro Millipore® de 0,45 µm, e injetadas no cromatografo líquido no volume de 20,0 µL e a partir da relação entre as concentrações e áreas absolutas obtidas foi construída a curva de calibração para o dicloridrato de cetirizina.

4.2.2.2.2.3. Pesquisa de interferentes na amostra de comprimidos pelo método CLAE

a. Preparação da solução padrão

Foram pesados exatamente, cerca de 125,0 mg de dicloridrato de cetirizina e transferidos para balão volumétrico âmbar de 50 mL. Adicionou-se q.s. de fase móvel até a dissolução, completando-se o volume com o mesmo solvente. Desta solução foram transferidas alíquotas de 4,0 mL para balões volumétricos âmbar de 10 mL (triplicata), completando-se o volume com fase móvel. Obtiveram-se concentrações de 1000,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina

b. Preparação da amostra simulada e placebo

Foi pesado do pó de 20 comprimidos, previamente triturados, o equivalente a 125,0 mg de dicloridrato de cetirizina. Transferiu-se para balão volumétrico âmbar de 50 mL. Adicionaram-se aproximadamente 25,0 mL de fase móvel e agitou-se por 15 min. O volume foi completado com o mesmo solvente obtendo-se uma solução de concentração de 2500,0 µg/mL. A solução foi centrifugada por 15 min e desta transferiu-se uma alíquota de 4,0 mL para balão volumétrico âmbar de 10 mL. A concentração analítica foi de 1000,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina.

Para o preparo da solução placebo foi pesado do pó de 20 comprimidos placebos, o equivalente de excipientes devendo conter 125,0 mg de dicloridrato de cetirizina e procedeu-se como no item anterior.

As soluções anteriormente preparadas nos itens a e b foram previamente filtradas em filtro Millipore® de 0,45 μm , e injetadas no cromatógrafo líquido no volume de 20,0 μL .

4.2.2.2.2.4. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina e substâncias relacionadas nas amostras de comprimidos por CLAE

a. Preparação da solução padrão

Foi utilizado como padrão a media aritmética das áreas das leituras de três soluções padrão preparadas nas concentrações de 1000,0 $\mu\text{g/mL}$, como descrito no item 4.2.2.2.2.3.a.

b. Preparação das soluções amostra simulada e comerciais

Amostras simulada e comerciais (A e B) foram preparadas em concentrações de 1000,0 $\mu\text{g/mL}$ de acordo com o descrito no item 4.2.2.2.2.3.b.

As soluções foram previamente filtradas em filtro Millipore® de 0,45 μm , e injetadas no cromatógrafo líquido no volume de 20,0 μL . Foram efetuadas dez determinações para cada amostra e os resultados foram analisados estatisticamente.

4.2.2.2.2.5. Teste de recuperação

a. Preparação do padrão

Preparou-se a solução mãe de dicloridrato de cetirizina na concentração de 2500,0 µg/mL conforme no item 4.2.2.2.2.3.a .

b. Preparação das amostras

Prepararam-se soluções das amostras simulada e comerciais (A e B), nas concentrações de 2500,0 µg/mL conforme o descrito no item 4.2.2.2.2.3.b. As alíquotas para preparo do ensaio foram retiradas após centrifugação das respectivas soluções.

c. Procedimento

Transferiram-se alíquotas da amostra e da solução padrão para balões volumétricos âmbar de 10 mL, conforme o procedimento, que segue na Tabela 5.

Tabela 5: Procedimento para execução do teste de recuperação nas amostras de comprimidos.

Balões	Dicloridrato de cetirizina		Concentração final μg/mL
	Solução padrão 2500,0 μg/mL (mL)	Solução da amostra 2500,0 μg/mL (mL)	
1	2,0	-	500,0
2	-	2,0	500,0
3	2,0	1,0	750,0
4	3,0	1,0	1000,0
5	4,0	1,0	1250,0

As soluções foram previamente filtradas em filtro Millipore® de 0,45 μm, e injetadas no cromatografo líquido no volume de 20,0 μL.

4.2.2.2.3. Comparação estatística dos resultados obtidos pelos métodos quantitativos de espectrofotometria derivada no ultravioleta (UVD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos

O teste de significância t que verifica a significância de uma média ou a diferença entre duas médias, e o teste F que compara duas variâncias, foram empregados com a finalidade de verificar se a diferença entre os resultados dos dois métodos era significativa ou podia ser atribuída ao acaso. (MILLER et al., 1993; Prado, 2002).

4. 2.3. Estudo de estabilidade acelerada

4.2.3.1. Condições empregadas

4.2.3.1.1. Substância de referência (dicloridrato de cetirizina)

Devido a falta de padrões de produtos de degradação, o padrão de dicloridrato de cetirizina foi submetido a testes de estresse oxidativo e hidrolítico, como é recomendado pelas Normas ICH Q1A(R2) (ICH, 2003a; BAKSHI et al., 2002; MAKHIJA et al., 2001).

Para isso foram preparadas soluções de 1000,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina em HCl 1 M; NaOH 1 M e H₂O₂, as quais foram aquecidas a 70°C durante duas horas.

Também foi preparada uma solução de 1000,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina em metanol, empregada como solução de referência.

4.2.3.1.2. Amostra de xarope

As amostras de xarope contidas em frascos de vidro âmbar, foram colocadas em estufas com temperaturas de 40 °C ± 2 °C, 50 °C ± 2 °C e 60 °C ± 2 °C, de acordo com a indicação para estudos de estabilidade de amostras contidas em recipientes impermeáveis, não sendo necessário seu armazenamento em condições exageradas de umidade (BRASIL, 2002b; MERCOSUL, 2000). Foram escolhidas estas três temperaturas segundo normas recomendadas pela ICH, a qual indica que para determinação do prazo de validade, as amostras devem ser submetidas a degradação pelo mínimo em três temperaturas, 15°C acima da temperatura recomendada para armazenamento (ICH, 2003a).

4.2.3.1.3. Amostra de comprimidos

As amostras de comprimidos simuladas acondicionadas em “strips” (alumínio / poliuretano), foram armazenadas em dois dessecadores de vidro de 300 mm de diâmetro contendo na parte inferior 100,0 mL de uma solução de acetato de sódio (65%) e 100,0 mL de água destilada, respectivamente. Os dessecadores foram colocados dentro de estufas, reguladas de tal maneira que dentro dos dessecadores as condições foram de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $75\% \pm 5\%$ de umidade relativa e $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $90\% \pm 5\%$ de umidade relativa como são indicadas para estudos de estabilidade de formas farmacêuticas contidas em acondicionamentos semi-permeáveis à umidade (BRASIL, 2002b; MERCOSUL,2000).

Para observar a influência da temperatura nas características farmacotécnicas e no desempenho de dissolução da formulação, amostras de comprimidos acondicionadas em “strips” (alumínio / poliuretano) foram submetidas a temperaturas de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A frequência dos ensaios controles foi realizada segundo o Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade Acelerados (BRASIL, 2002b; MERCOSUL,2000).

4.2.3. 2. Análises controle

4.2.3.2.1. Substância de referência (dicloridrato de cetirizina)

4.2.3.2.1.1. Análise físico-química

4.2.3.2.1.1.1. Cromatografia em camada delgada

Foram aplicadas em placa de sílica-gel GF254 (20 x 20cm), previamente ativada a 100°C durante uma hora, soluções de 1000,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina, expostas e não expostas ao testes de “stress” oxidativo e hidrolítico, levando-se em consideração o ajuste prévio do pH.

A placa foi posteriormente transferida para cuba cromatográfica saturada contendo 1,0 mL de amônia, 10,0 mL de metanol e 90,0 mL de diclorometano. Após o sistema atingir 15cm acima do ponto de aplicação, a placa cromatográfica foi retirada e mantida em repouso dentro da capela, até evaporação completa do sistema eluente.

A visualização das manchas de coloração amarelada foi obtida após a exposição da placa cromatográfica em cuba saturada com vapor de iodo metálico, durante o intervalo de 1 hora. Comparou-se os valores dos fatores de retenção da solução de dicloridrato de cetirizina não exposto ao estresse oxidativo e hidrolítico, e das soluções de dicloridrato de cetirizina em HCl 1 M, NaOH 1 M e H₂O₂.

4.2.3.2.1.2. Análise quantitativa

4.2.3.2.1.2.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Após ajuste do pH das soluções de 1000,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina expostas e não expostas ao estresse oxidativo e hidrolítico, as soluções foram determinadas empregando condições cromatográficas estabelecidas no item 4.2.2.2.2.1.

4.2.3.2.2. Amostra de xarope

4.2.3.2.2.1. Análise físico-química

4.2.3.2.2.1.1. Características organolépticas

No decorrer do período durante o qual as amostras de xarope ficaram submetidas ao estudo de estabilidade foram observadas as características de cor, odor e homogeneidade.

4.2.3.2.2.1.2. Determinação do pH

A variação de pH da amostra de xarope foi avaliada empregando-se o aparelho descrito no item 4.1.6. Após calibragem do aparelho com tampões de referência com pH de 4,01 e de 6,86, as amostras submetidas a degradação foram analisadas nos intervalos de coleta fixados.

4.2.3.2.2.2. Análise quantitativa

Para determinação do teor das amostras de xarope submetida ao estudo de estabilidade acelerado, empregou-se o método por espectrofotometria derivada no ultravioleta padronizado e validado no item 4.2.2.1.

4.2.3.2.2.2.1. Determinação dos parâmetros cinéticos e período de vida útil a 25 °C da amostra simulada de xarope

Os dados foram submetidos a análise de regressão linear, obtendo-se os valores da constante de velocidade de degradação (K) e da energia de ativação, para determinação do período de vida útil da formulação a 25 °C.

4.2.3.2.3. Amostra de comprimidos

4.2.3.2.3.1. Análise físico-química

4.2.3.2.3.1.1. Características organolépticas

Na amostra de comprimidos também foram observadas características de cor, odor e aparência, no decorrer do período no qual as amostras ficaram submetidas ao estudo de estabilidade.

4.2.3.2.3.1.2. Determinação do peso médio e dureza da amostra de comprimidos

As determinações de peso médio e dureza foram efetuadas individualmente, a partir de 10 unidades aleatoriamente selecionadas e as médias para cada ensaio foram obtidas conforme descrito na Farmacopéia Brasileira 4ª ed. (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988).

4.2.3.2.3.1.3. Desempenho de dissolução das amostras de comprimidos

Foram construídos os perfis de dissolução dos comprimidos submetidos a degradação térmica nas temperaturas de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, durante o estudo de estabilidade empregando o método de dissolução proposto no item 4.2.2.2.1.5.

4.2.3.2.3.1.3.1. Avaliação do perfil de dissolução

Com o objetivo de estar avaliando o perfil de dissolução das amostras de comprimidos simuladas, submetidas à degradação térmica nas temperaturas de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, foram calculados os seguintes parâmetros cinéticos: constante de velocidade de dissolução (K), meia vida de dissolução ($t_{50\%}$) e eficiência de dissolução (ED%).

4.2.3.2.3.2. Análise quantitativa

Para determinação do teor do dicloridrato de cetirizina na amostra de comprimidos foi empregada a metodologia por espectrofotometria derivada no ultravioleta, padronizada e validada no item 4.2.2.2.1. Já mediante o método por cromatografia líquida de alta eficiência, padronizado e validado no item 4.2.2.2.2., foram determinados os teores e as porcentagens de dicloridrato de cetirizina, substâncias relacionadas e possíveis produtos de degradação das amostras submetidas ao estudo de estabilidade acelerado.

RESULTADOS

5.1. Análise físico-química

5.1.1. Identificação do dicloridrato de cetirizina empregado como substância de referência

5.1.1.1. Reação de cloretos

Foi diluída quantidade de dicloridrato de cetirizina equivalente a 2,0 mg de cloreto em ácido nítrico diluído e adicionou-se a esta solução nitrato de prata. O precipitado branco, de acordo com o especificado pela Farmacopéia Européia 4^a ed. (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2001), indicou a presença de cloretos na amostra.

5.1.1.2. Espectroscopia na região do infravermelho

O espectro de absorção no infravermelho do dicloridrato de cetirizina encontra-se ilustrado na Figura 2.

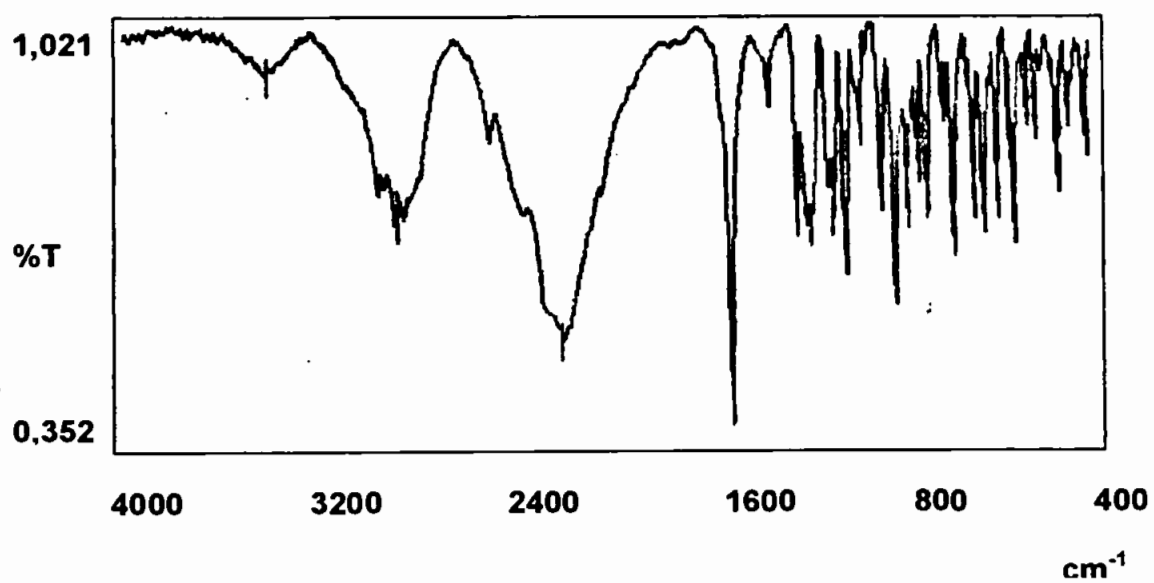


Figura 2: Espectro do dicloridrato de cetirizina na região do infravermelho, (pastilha de KBr). Picos principais (comprimento de onda cm^{-1}): 719,54; 758,09; 920,00; 1010,98; 1091,51; 1496,24; 1760,26; 2371,30; 3451,41.

5.1.1.3. Espectrofotometria na região do ultravioleta

A Figura 3 apresenta o espectro de absorção do dicloridrato de cetirizina no ultravioleta.

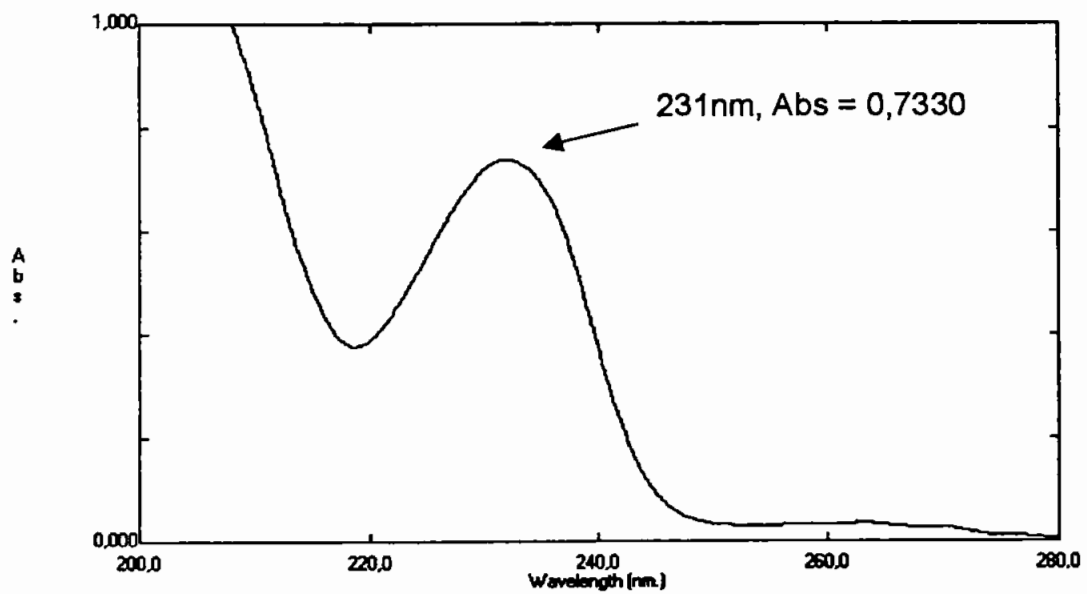


Figura 3: Espectro de absorção no ultravioleta da solução de dicloridrato de cetirizina (20,0 $\mu\text{g/mL}$) em ácido clorídrico 0,1M, pico máximo em 231nm.

5.1.1.4. Cromatografia em camada delgada

Os valores de R_fs obtidos encontram-se entre 0,29 e 0,31 como pode ser observado na Figura 4. (De acordo com a Farmacopéia Européia 4ed.).

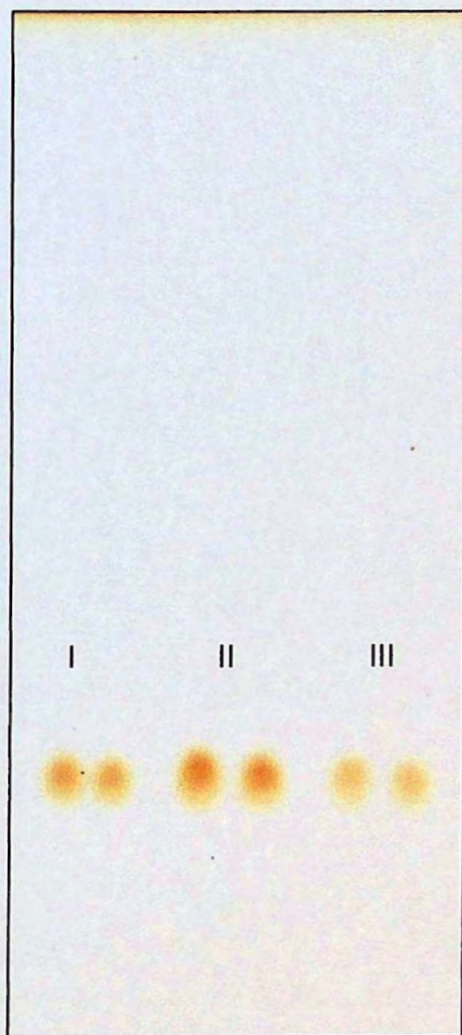


Figura 4: Comparação cromatográfica do dicloridrato de cetirizina empregado como substância de referência (I) e outras duas matérias-primas de dicloridrato de cetirizina (II e III), provenientes de diferentes fornecedores.

5.1.1.5. Cromatografia líquida de alta eficiência

Para fins deste estudo, foi empregado o método cromatográfico padronizado e validado no item 4.2.2.2.2. Na Figura 5 pode ser observado que as quantidades de impurezas totais presentes no dicloridrato de cetirizina (CZ) (matéria-prima) empregada como substância de referência, encontram-se em porcentagens de 1,2%.

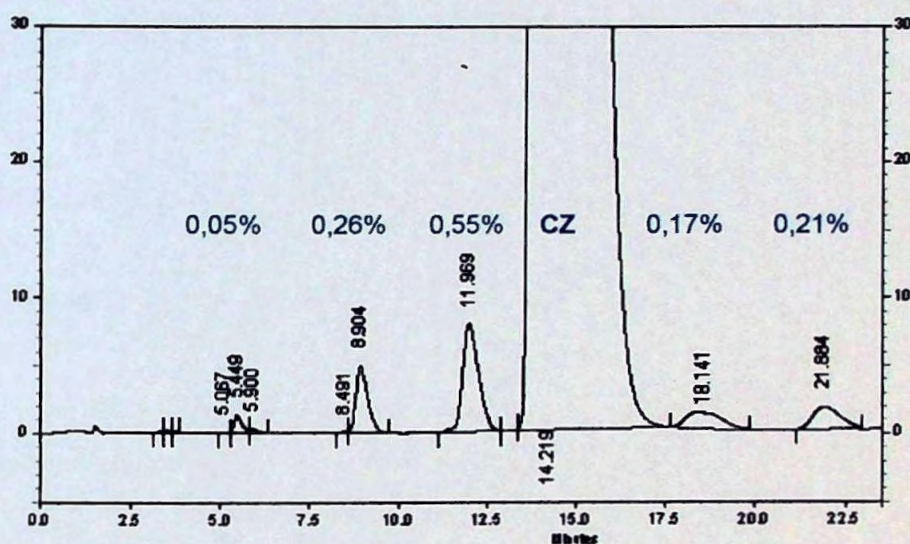


Figura 5: Perfil cromatográfico do dicloridrato de cetirizina (1000,0 µg/mL) empregado como substância de referência. Condições cromatográficas: coluna: Chromolith® RP18; fase móvel: metanol: acetonitrila: fosfato de potássio (0,07M): ácido orto-fosfórico (18:18:64:0,6); vazão: 1,0 mL/min; detecção: 230nm; temperatura: 19°C ± 1 °C; volume injetado: 20,0µL.

5.1.2. Caracterização da amostra de xarope

5.1.2.1. Características organolépticas

A solução de xarope apresentou cor translúcida, levemente amarelada e odor de cereja.

5.1.2.2. Determinação do pH

A amostra de xarope apresentou pH 5,0 após ajuste com solução de NaOH 1,0 M.

5.1.3. Caracterização das amostras de comprimidos

5.1.3.1. Características organolépticas

Os comprimidos recém preparados para acondicionamento nos “blisters” apresentaram coloração branca homogênea e inodoros.

5.1.3.2. Determinação do peso médio

Os valores médios obtidos da determinação do peso médio das amostras simulada e comerciais (A e B) podem ser observados na Tabela 6.

Tabela 6 : Resultados das determinações do peso médio das amostras simulada e comerciais.

Amostra	Peso médio (mg)	DPR %
3	129,25	2,58
A	121,43	1,60
B	130,47	3,23

5.1.3.3. Determinação da dureza

Os valores médios obtidos na determinação da dureza das amostras simulada e comerciais A e B podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7 : Resultados das determinações da dureza das amostras simulada e comerciais.

AMOSTRA	DUREZA (Kgf)	DPR %
3	7,20	7,73
A	6,55	2,30
B	10,79	2,47

5.2. Análise quantitativa

5.2.1. Metodologia analítica para determinação do dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope

5.2.1.1. Espectrofotometria no ultravioleta

5.2.1.1.1. Curva de Ringbom

Tabela 8 : Resultados obtidos na determinação da curva de Ringbom do dicloridrato de cetirizina em HCL 0,1 M pelo método espectrofotométrico direto a 231nm. Intervalo de concentração de 4,0 a 80,0 $\mu\text{g/mL}$.

Balão	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbância	Transmitância (%T)	100 - T	Log C
1	4,0	0,1489	70,97	29,03	0,60
2	8,0	0,2949	50,71	49,29	0,90
3	12,0	0,4384	36,44	63,56	1,08
4	16,0	0,5846	26,03	73,97	1,20
5	20,0	0,7174	19,17	80,83	1,30
6	24,0	0,8798	13,19	86,81	1,38
7	28,0	1,0161	9,64	90,36	1,45
8	32,0	1,1644	6,85	93,15	1,50
9	36,0	1,3091	4,91	95,09	1,56
10	40,0	1,4397	3,63	96,37	1,60
11	44,0	1,5939	2,55	97,45	1,64
12	48,0	1,7654	1,72	98,28	1,68
13	52,0	2,0476	0,90	99,10	1,72
14	56,0	2,1747	0,67	99,33	1,75
15	60,0	2,3091	0,49	99,51	1,78
16	64,0	2,3064	0,49	99,51	1,81
17	68,0	2,4326	0,37	99,63	1,83
18	72,0	2,5812	0,26	99,74	1,86
19	76,0	2,7372	0,18	99,82	1,88
20	80,0	2,8721	0,13	99,87	1,90

A representação da curva de Ringbom pode ser visualizada na Figura 6.

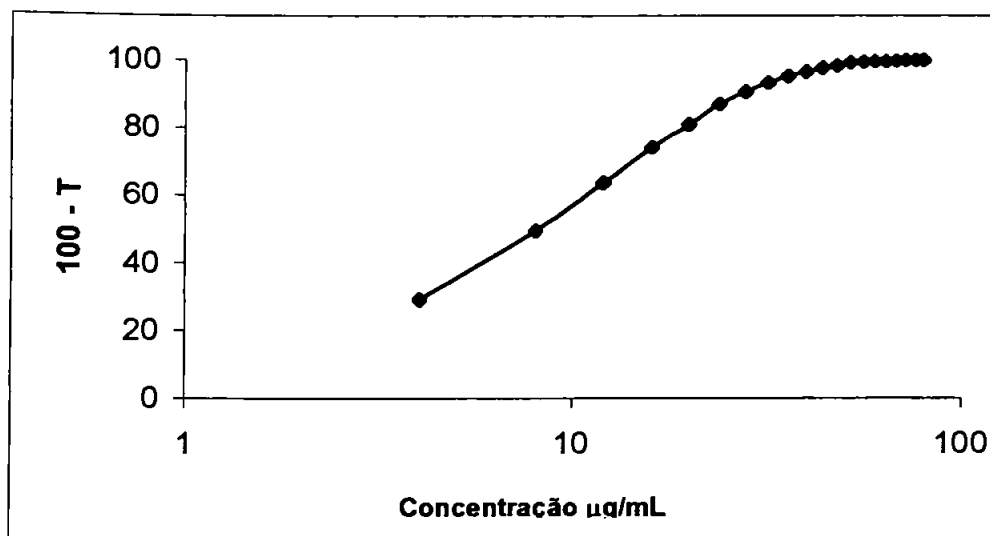


Figura 6: Curva de Ringbom obtida pelo método espectrofotométrico no ultravioleta. Concentração das soluções: 4,0 a 80,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1 M. Leituras efetuadas a 231 nm.

5.2.1.2. Espectrofotometria derivada no ultravioleta

A Figura 7 mostra o espectro de absorção direto e o de primeira derivada do dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1 M, empregando-se condições estabelecidas no item 4.2.2.1.1.3.

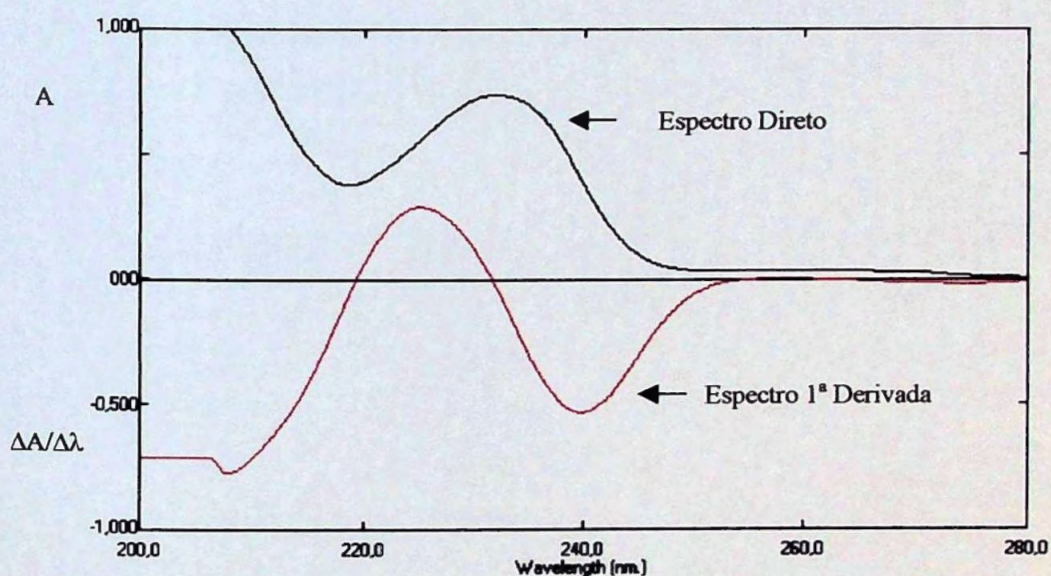


Figura 7: Espectro de absorção direto (—) e de 1ª derivada (—) da solução de dicloridrato de cetirizina (20,0 $\mu\text{g/mL}$) em ácido clorídrico 0,1 M.

5.2.1.2.1. Curva de calibração do método espectrofotométrico derivado para determinação da amostra de xarope

A curva de calibração foi construída no intervalo de 5,0 a 30,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina em solução de ácido clorídrico 0,1M. As Tabelas 9 e 10 apresentam os dados obtidos nesta determinação, e a Figura 8 apresenta o gráfico destes resultados.

Tabela 9 : Absorbâncias e $\Delta A/\Delta\lambda$ obtidas na determinação da curva de calibração do dicloridrato cetirizina em HCl 0,1 M. Intervalo de concentração de 5,0 a 30,0 $\mu\text{g/mL}$.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbância (231 nm)	$\Delta A/\Delta\lambda$ (225,8 nm)	DPR (%) (225,8 nm)
5,0	0,1847	0,0712	0,945
10,0	0,3705	0,1414	0,645
15,0	0,5444	0,2107	0,513
20,0	0,7330	0,2841	0,525
25,0	0,9136	0,3538	0,5050
30,0	1,0955	0,4261	0,4422

*Média de três determinações

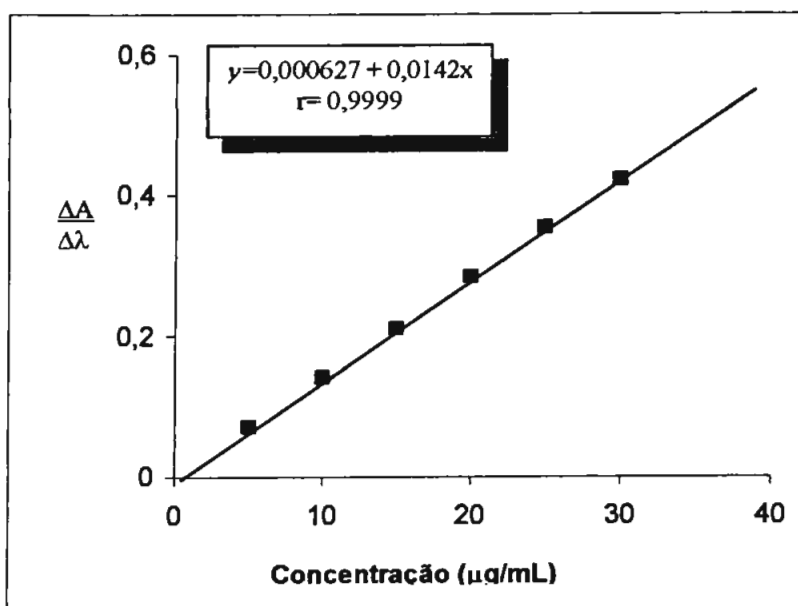


Figura 8: Curva de calibração do dicloridrato de cetirizina em HCl 0,1M, obtida pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta em 225,80nm.

Tabela 10: Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina pelo método por espectrofotométrico por derivada no ultravioleta, com determinação a 225,80 nm. Intervalo de concentração 5,0 a 30,0 µg/mL.

Parâmetros	Resultados obtidos
Intersecção da reta (a)	-0,0006266
Coefficiente angular (b)	0,01420
Coefficiente de correlação (r)	0,9999
Erro padrão da estimativa relativo (Ser)	0,0043%
Teste de significância de a	0,1519

5.2.1.2.2. Pesquisa de interferentes na amostra de xarope pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta

A aplicação do método direto para determinação do dicloridrato de cetirizina na formulação do xarope é completamente inviável como apresenta a Figura 9, já com a derivação destes espectros, no ponto “zero-crossing” (225,8 nm), a substância em estudo pode ser determinada sem nenhuma interferência (Figura 10).

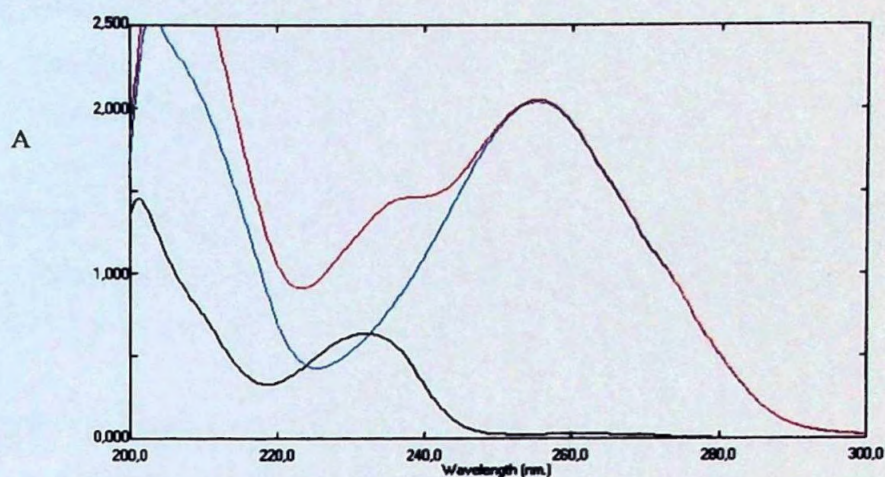


Figura 9: Sobreposição de curvas de absorção no UV. Placebo (—), padrão (---), amostra de xarope simulada (—). Concentrações de 20,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1M.

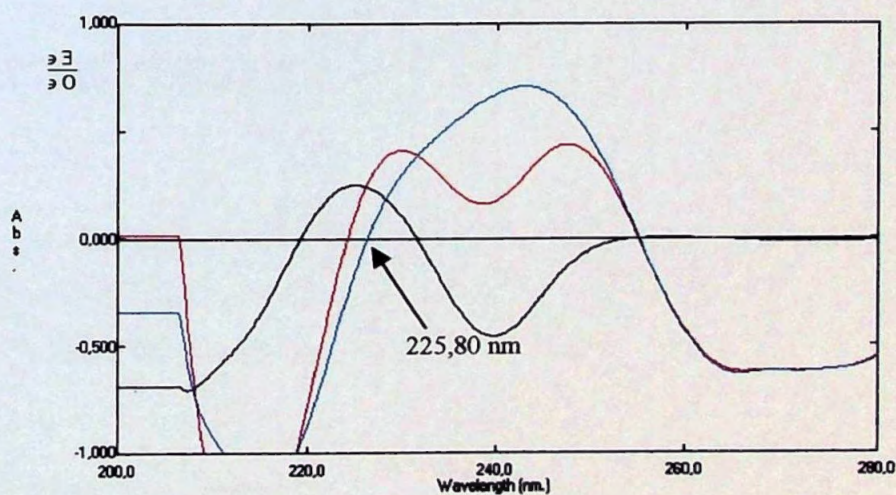


Figura 10: Sobreposição de curvas de absorção por espectrofotometria derivada de primeira ordem. Placebo (—), padrão (---), amostra de xarope simulada (—). Concentrações de 20,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1M. Determinação a 225,8 nm. Método quantitativo: *Zero-crossing*.

5.2.1.2.3. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta

As Tabelas 11 e 12 apresentam os resultados obtidos empregando o método por espectrofotometria derivada no ultravioleta, para determinação da amostra de xarope. Método de determinação quantitativa: *zero - crossing* em 225,80 nm.

Tabela 11: Resultados obtidos na determinação do teor de dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta. Leituras em 225,80 nm.

Amostra	Valor rotulado de dicloridrato de cetirizina (mg/mL)	Valor encontrado* de dicloridrato de cetirizina (mg/mL)	Teor Percentual (%)
1	1,00	1,03	103,00

* Média de dez determinações

Tabela 12: Resultados estatísticos obtidos na determinação do dicloridrato de cetirizina na amostra de xarope pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta.

Amostra	Desvio padrão	Desvio padrão relativo (%)	Intervalo de confiança P=95%
1	0,42	0,43	103,00 ± 0,30

5.2.1.2.4. Teste de recuperação

Os resultados da recuperação do padrão de dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta efetuado na amostra de xarope, podem ser observados na Tabela 13.

Tabela 13: Resultados da recuperação do dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta da amostra de xarope. Método "zero-crossing" com determinação em 225,80 nm.

Amostra	Quantidade ($\mu\text{g/mL}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Recuperada	
1	5,0	5,03	100,60
	10,0	10,02	100,20
	15,0	14,93	99,53

5.2.2. Metodologias analíticas para determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos

5.2.2.1. Espectrofotometria derivada no ultravioleta

5.2.2.1.1. Curva de calibração

As varreduras dos espectros e suas respectivas derivadas foram construídas seguindo parâmetros estabelecidos no item 5.2.1.2.1. As leituras para construção da curva de calibração empregada na determinação das

amostras de comprimidos, foram realizadas no comprimento de onda de 239,80nm das curvas derivadas mediante o método zero pico. As Tabelas 14 e 15 apresentam os dados obtidos nesta determinação, e a Figura 11 apresenta o gráfico destes resultados.

Tabela 14 : Absorbâncias e $\Delta A/\Delta\lambda$ obtidas na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina para determinação das amostras de comprimidos. Intervalo de concentração de 5,0 a 30,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina em HCl 0,1M.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbância (231 nm)	$\Delta A/\Delta\lambda \times f = 9$ (239,80 nm)	DPR (%) (239,80 nm)
5,0	0,1847	0,1341	0,932
10,0	0,3705	0,2687	0,612
15,0	0,5444	0,3948	0,513
20,0	0,7330	0,5328	0,520
25,0	0,9136	0,6612	0,515
30,0	1,0955	0,7917	0,438

*Média de três determinações

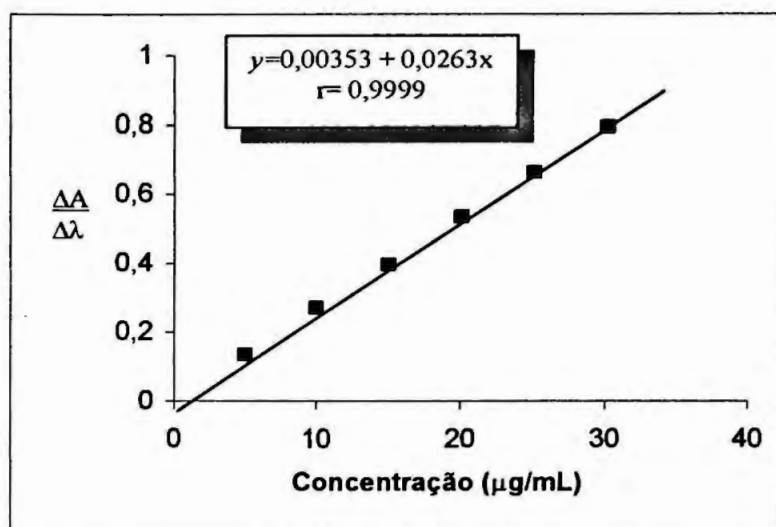


Figura 11: Curva de calibração do dicloridrato de cetirizina em HCl 0,1 M, obtida pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta a 239,80nm.

Tabela 15: Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta com determinação a 239,80 nm. Intervalo de concentração de 5,0 a 30,0 µg/mL.

Parâmetros	Resultados obtidos
Intersecção da reta (a)	0,003533
Coefficiente angular (b)	0,02630
Coefficiente de correlação (r)	0,9999
Erro padrão da estimativa relativo (Ser)	0,58%
Teste de significância de a	1,401

5.2.2.1.2. Pesquisa de interferentes na amostra de comprimidos empregando método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta.

Os resultados da análise dos interferentes na determinação do dicloridrato de cetirizina na amostra simulada de comprimidos, pelos métodos espectrofotométricos, podem ser visualizado nas Figura 12 e 13.

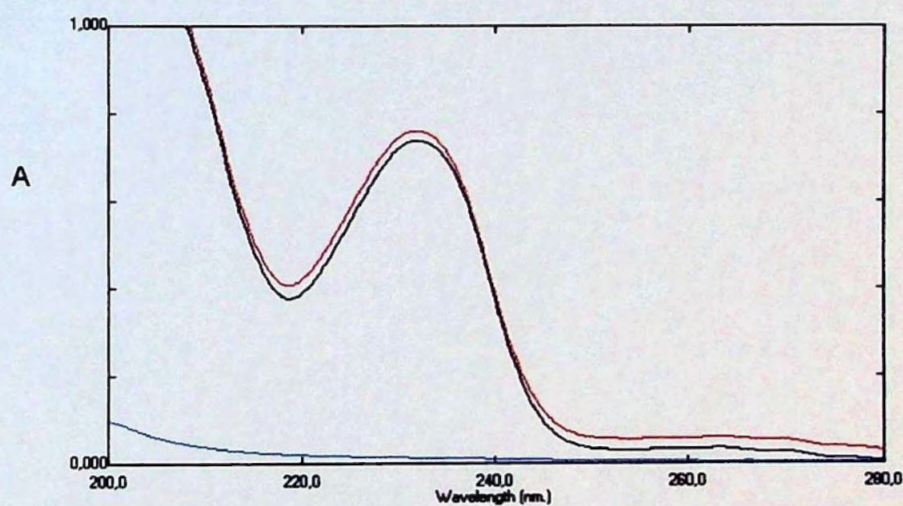


Figura 12: Sobreposição de curvas de absorção no ultravioleta. Placebo (---), padrão (—), amostra de comprimidos simulada(---). Concentrações de 20,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1M.

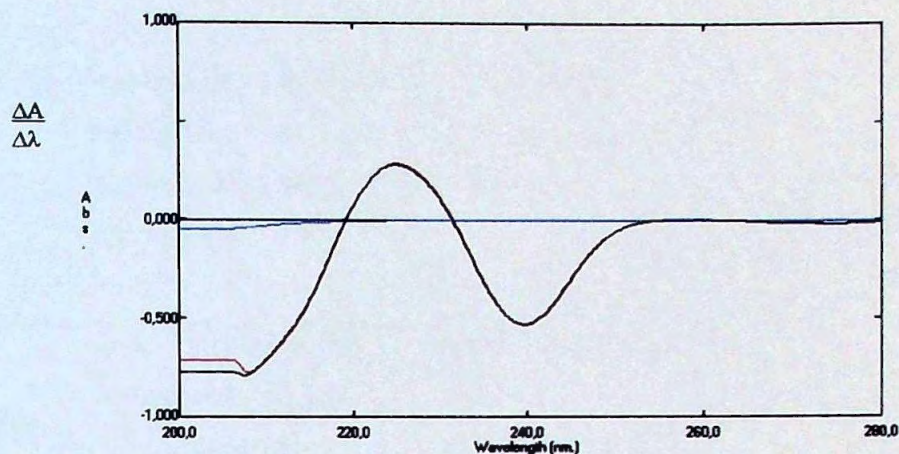


Figura 13: Sobreposição de curvas de absorção por espectrofotometria derivada de primeira ordem. Placebo(---), padrão (----), amostra de comprimidos simulada (-.-.-). Concentrações de 20,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina em ácido clorídrico 0,1 M.

5.2.2.1.3. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta

As Tabelas 16 e 17 apresentam os resultados obtidos empregando o método por espectrofotometria derivada no ultravioleta, para determinação das amostras de comprimidos. Método de determinação quantitativa: zero - pico em 239,80 nm.

Tabela 16: Resultados obtidos na determinação do teor de dicloridrato de cetirizina na amostra de comprimidos pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta. Leituras em 239,80 nm.

Amostra	Valor rotulado de dicloridrato de cetirizina (mg/mL)	Valor encontrado* de dicloridrato de cetirizina (mg/mL)	Teor percentual (%)
3	10,0	10,34	103,40
A	10,0	9,64	96,40
B	10,0	10,10	101,00

* Média de dez determinações

Tabela 17: Resultados estatísticos obtidos na determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta.

Amostra	Desvio padrão	Desvio padrão relativo (%)	Intervalo de confiança (P=95%)
3	0,73	0,71	103,40 ± 0,53
A	0,81	0,84	96,40 ± 0,67
B	0,77	0,77	101,00 ± 0,56

5.2.2.1.4. Teste de recuperação

Os resultados da recuperação, do padrão de dicloridrato de cetirizina pelo método por espectrofotometria derivada no ultravioleta efetuado nas amostras de comprimidos, podem ser observados na Tabela 18.

Tabela 18: Resultados da recuperação do dicloridrato de cetirizina pelo método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta das amostras de comprimidos. Método zero-pico com determinação em 239,80 nm.

Amostra	Quantidade ($\mu\text{g/mL}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Recuperada	
1	5,0	5,04	100,80
	10,0	10,04	100,40
	15,0	15,09	100,60
A	5,0	4,97	99,40
	10,0	9,84	98,40
	15,0	14,88	99,20
B	5,0	5,02	100,40
	10,0	10,07	100,70
	15,0	14,96	99,73

5.2.2.1.5. Teste de dissolução

5.2.2.1.5.1. Teste de dissolução de um único ponto

A Tabela 19 apresentam-se os resultados referentes ao teste de dissolução de um único ponto, aplicado para a amostra simulada e amostra comercial A de referência.

Tabela 19 Porcentagem de dicloridrato de cetirizina dissolvida a partir da amostra simulada e amostra comercial A, empregando método por espectrofotometria derivada no ultravioleta.

Cubas	Amostras	
	3	A
1	103,29	89,62
2	100,79	90,87
3	100,97	95,21
4	104,31	89,49
5	105,03	91,57
6	104,20	90,02
Média ± DP	103,09 ± 1,83	91,13 ± 2,15
DPR (%)	1,78	2,36

No teste empregou-se: meio de dissolução: ácido clorídrico 0,1 M, 500,0 mL; aparato: n°2 (pá), velocidade de agitação: 50 rpm; tempo de coleta: 30 minutos, determinação quantitativa, 239,80nm (UVD).

5.2.2.1.5.2. Perfil de dissolução

Os perfis de dissolução foram obtidos através de coletas seriadas em intervalos de tempo anteriormente pré-definidos. Os valores de concentração de dicloridrato de cetirizina dissolvida em função do tempo para as amostras simulada e comercial A, nas condições estabelecidas, são apresentados na Tabela 20, e a Figura 14 ilustra comparativamente o comportamento de dissolução destas amostras.

Tabela 20: Porcentagens de dicloridrato de cetirizina dissolvida em função do tempo, a partir das amostras simulada e comercial A.

Tempo (minutos)	% dissolvida \pm SD	
	Simulada	Comercial (A)
1	3,93 \pm 1,10	8,56 \pm 2,06
3	52,68 \pm 8,50	35,10 \pm 3,97
6	81,19 \pm 11,33	67,45 \pm 7,23
9	96,67 \pm 6,98	90,14 \pm 7,08
12	100,45 \pm 5,57	99,44 \pm 5,57
15	102,16 \pm 4,72	100,82 \pm 6,69
20	104,19 \pm 4,59	100,29 \pm 5,65
25	103,85 \pm 4,17	100,00 \pm 4,91
30	102,36 \pm 4,29	98,26 \pm 4,60

Os valores correspondem à média de 12 determinações. No ensaio do perfil de dissolução empregou-se: meio de dissolução= HCl 0,1 M, desgaseificado; volume do meio = 500,0 mL, aparato= 2 (pá), velocidade de agitação= 50rpm, determinação=UVD, 239,80nm.

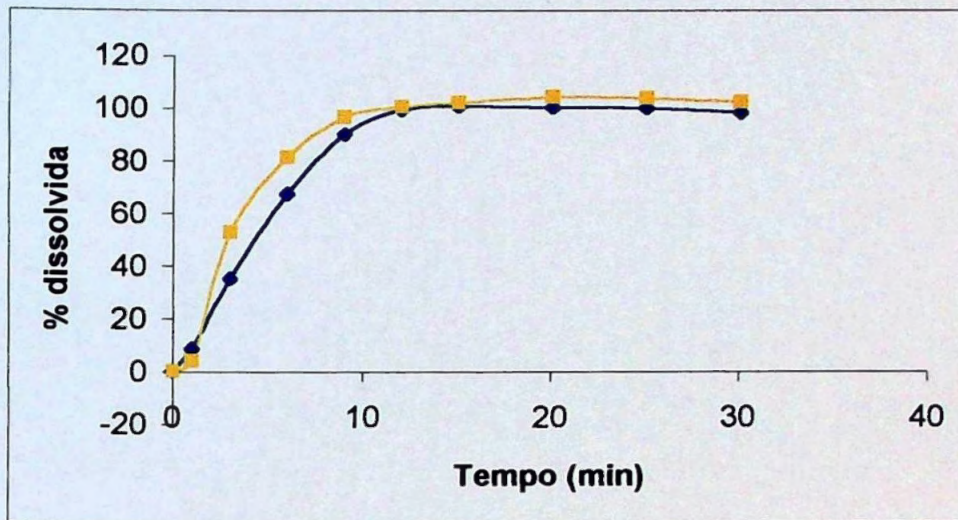


Figura 14: Perfis de dissolução do dicloridrato de cetirizina a partir da amostra simulada (—■) e comercial A (—●), em HCl 0,1 M, velocidade de agitação 50 rpm. Os valores correspondem à média de doze determinações.

5.2.2.1.5.2.1. Avaliação do perfil de dissolução

A Tabela 21 apresenta a porcentagem de eficiência de dissolução (ED%) e os parâmetros cinéticos obtidos a partir das equações da reta determinada pelo modelo de primeira ordem do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos simulada e comercial A.

Tabela 21: Eficiência de dissolução (ED%) e parâmetros cinéticos obtidos a partir das equações da reta determinados pelo modelo de primeira ordem do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos simulada e comercial A.

Parâmetro	Amostra simulada	Amostra comercial A
ED (%)	89,24	84,07
K (min ⁻¹)	0,2938	11,47
t _{50%} (min)	2,36	4,40
t _{85%} (min)	6,99	8,63

ED%= Eficiência de dissolução; K=constante de velocidade de dissolução e t_{50%}= meia vida de dissolução e t_{85%}= tempo médio necessário para dissolução de 85% de dicloridrato de cetirizina presente nos comprimidos.

5.2.2.2. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

5.2.2.2.1. Estudos preliminares

As Figuras de 15 a 20 apresentam os cromatogramas resultantes da aplicação dos sistemas 1 - 6 para separação do dicloridrato de cetirizina e da impureza (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina, empregando cromatógrafo CG 480C; detector UV, modelo CG 435, Integrador CG modelo 200.

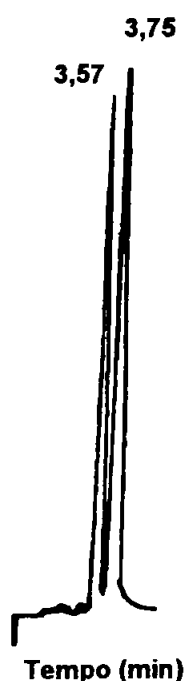


Figura 15: Cromatograma do dicloridrato de cetirizina ($t_r=3,57$ min) e do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina ($t_r=3,75$ min) em concentrações de $20,0 \mu\text{g/mL}$ respectivamente, referente ao sistema 1. Fase móvel: acetonitrila: tampão fosfato de potássio (0,01M): ácido orto-fosfórico (3gts), (70:30) pH 3,0 ; vazão 0,8 mL/min; coluna: Chromolith[®] RP-18; detecção: 230 nm; temperatura: $19^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$; volume de injeção: $20,0 \mu\text{L}$.

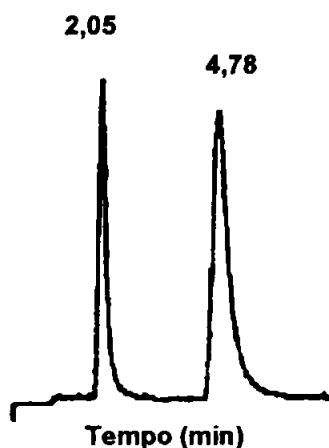


Figura 16: Cromatograma do dicloridrato de cetirizina ($t_r=2,05$) e do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina ($t_r=4,78$) em concentrações de $20,0 \mu\text{g/mL}$ respectivamente, referente ao sistema 2. Fase móvel: acetonitrila: tampão fosfato de potássio (0.01M), (70:30), pH 5,6; vazão: $0,8\text{mL/min}$; coluna: Chromolith[®] RP-18; detecção: 230 nm ; temperatura: $19^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$; volume de injeção: $20,0 \mu\text{L}$.

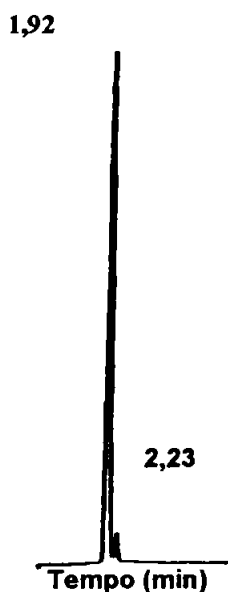


Figura 17: Cromatograma do dicloridrato de cetirizina ($20,0 \mu\text{g/mL}$) ($t_r=1,92$) e do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina ($1,0 \mu\text{g/mL}$) ($t_r=2,23$) referente ao sistema 3. Fase móvel: acetonitrila: tampão fosfato de potássio (0.05 M), (70:30), pH 5,0; vazão: $0,8 \text{ mL/min}$; coluna: Chromolith[®] RP-18 ; detecção: 230 nm ; temperatura: $19^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$; volume de injeção: $20,0 \mu\text{L}$.

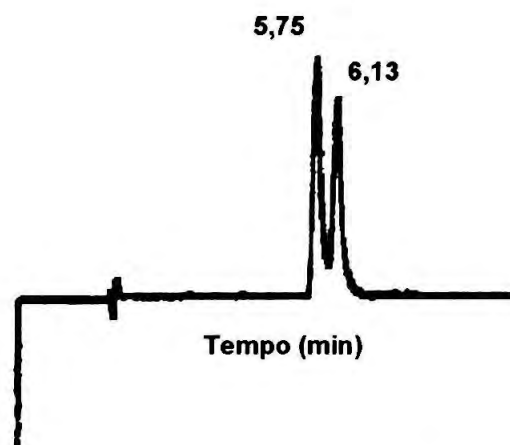


Figura 18: Cromatograma do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina ($t_r= 5,75$) e do dicloridrato de cetirizina ($t_r= 6,13$) em concentrações de $20,0 \mu\text{g/mL}$ respectivamente referente ao sistema 4. Fase móvel: metanol: acetonitrila: tampão fosfato de potássio (0.05M): ácido orto-fosfórico, (18:32:50:0,2), pH 3,0; vazão: $1,0 \text{ mL/min}$; coluna: Chromolith® RP-18. detecção: 230 nm ; temperatura: $19^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$; volume de injeção: $20,0 \mu\text{L}$.

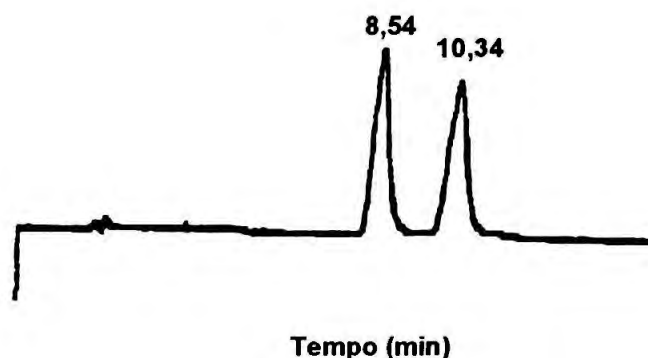


Figura 19: Cromatograma do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina ($20,0 \mu\text{g/mL}$) ($t_r=8,54$) e do dicloridrato de cetirizina ($20,0 \mu\text{g/mL}$) ($t_r=10,34$) referente ao sistema 5. Fase móvel: metanol: acetonitrila: tampão fosfato de potássio (0.05 M): ácido orto-fosfórico, (18:22:60:0.6), pH 2,5 ; vazão: $1,0 \text{ mL/min}$; coluna: Chromolith® RP 18; detecção: 230 nm ; temperatura: $19 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$; volume de injeção: $20,0 \mu\text{L}$.

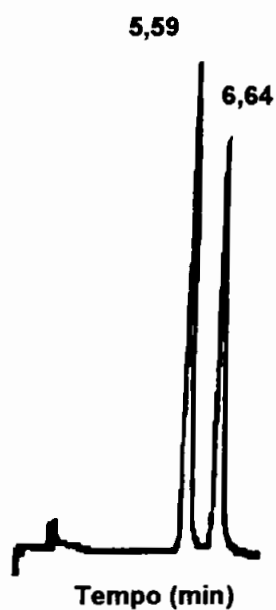


Figura 20: Cromatograma do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina ($t_r=5,59$) e do dicloridrato de cetirizina ($t_r= 6,64$) em concentrações de 20,0 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, referente ao sistema 6. Fase móvel: metanol: acetonitrila: tampão fosfato de potássio (0.07 M): ácido orto-fosfórico, (18:22:60:0.8), pH 2,5 ; vazão: 1,3 mL/min; coluna: Chromolith® RP 18; detecção: 230 nm; temperatura: 19 $^{\circ}\text{C} \pm 1$ $^{\circ}\text{C}$; volume de injeção: 20,0 μL .

Observando-se que mediante aplicação do sistema cromatográfico 6, consegue-se resoluções entre os sinais do dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina de 2,7, procedeu-se a determinação dos limites de detecção e quantificação para cada uma das substâncias, a partir dos quais foram calculadas as concentrações de dicloridrato de cetirizina, que permitem a detecção do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina, na matéria-prima.

5.2.2.2.1.1. Limite de detecção e limite de quantificação do dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina

A Tabela 22 apresenta os resultados dos limites de detecção e de quantificação do dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil] piperazina, empregando CG 480C; detector UV, modelo CG 435, Integrador CG modelo 200.

Tabela 22: Resultados obtidos na determinação dos limites de detecção e quantificação do dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina, pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência.

Parâmetro	Dicloridrato de cetirizina ($\mu\text{g/mL}$)	(RS)-1[(4clorofenil)fenilmetil] piperazina ($\mu\text{g/mL}$)
Limite de detecção	0,21	0,61
Limite de quantificação	0,64	2,03

5.2.2.2.2. Otimização do método por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para determinação do dicloridrato de cetirizina e detecção de substâncias relacionadas.

A Figura 21 apresenta os cromatogramas obtidos do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina (Impureza) e do dicloridrato de cetirizina empregando condições cromatográficas estabelecidas no item 4.2.2.2.2.1.

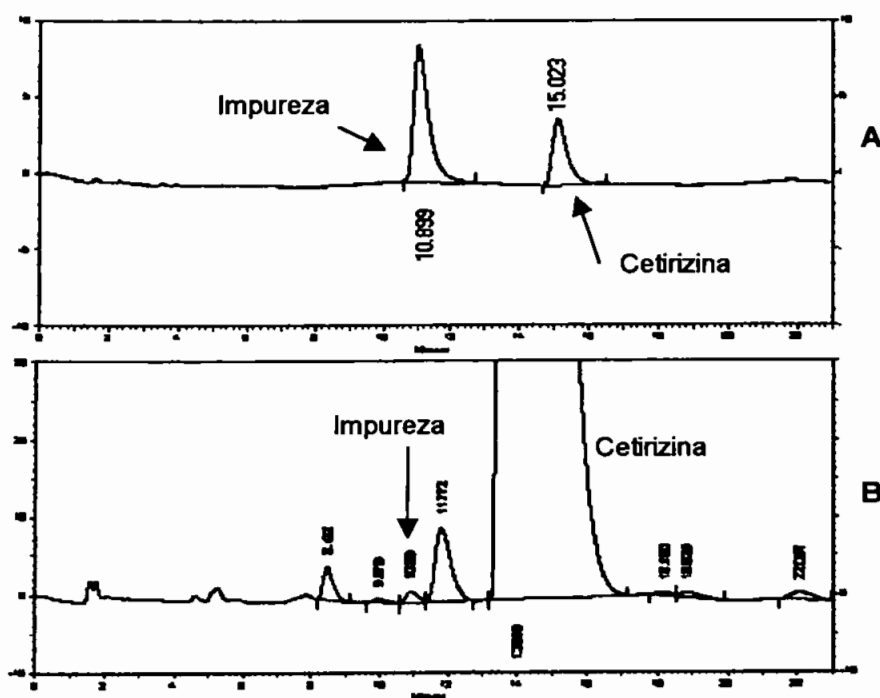


Figura 21: Cromatogramas do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil] piperazina (Impureza) e do dicloridrato de cetirizina (A) e de uma amostra de comprimidos de 1000,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina (B), empregando método estabelecido no item 4.2.2.2.2.1. Condições: Fase móvel: metanol: acetonitrila: fosfato de potássio (0,07M): ácido orto-fosfórico (18:18:64:0,6), pH 2,5; vazão: 1,0 mL/min, detecção a 230nm; temperatura 19 °C ± 1°C; volume de injeção: 20,0 µL; coluna Chromolith® RP18, cromatografo Shimadzu®.

5.2.2.2.2. 1. Curva de calibração do dicloridrato de cetirizina

As Tabelas 23 e 24 apresentam os dados obtidos na construção da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina, e a Figura 22 mostra o gráfico obtido para estes resultados.

Tabela 23: Resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Detecção a 230nm.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Área do Pico*	DPR(%)
500,0	17761432	0,220
750,0	27523762	0,424
1000,0	36243652	0,180
1250,0	44822259	0,216
1500,0	54137867	0,197

*Média de três leituras.

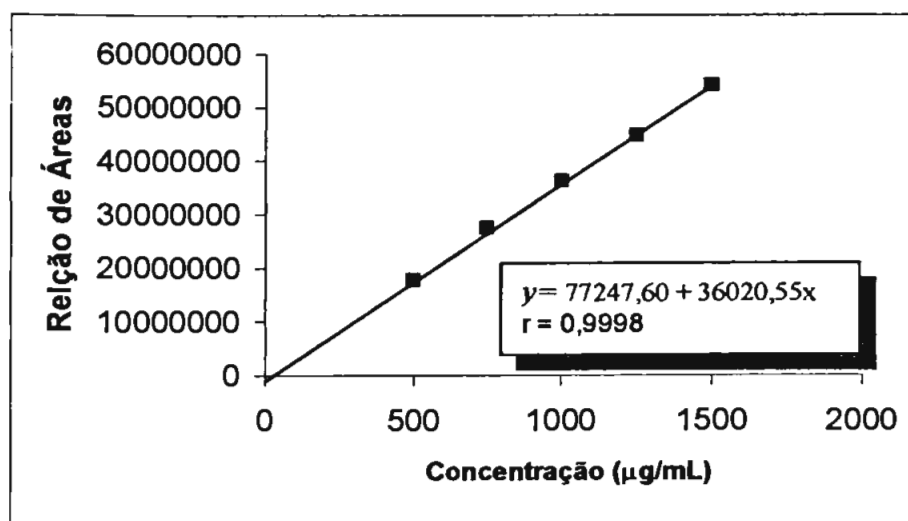


Figura 22: Curva de calibração do dicloridrato de cetirizina (500,0 a 1500,0 µg/mL) empregando o método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Tabela 24: Análise estatística dos resultados obtidos na determinação da curva de calibração do dicloridrato de cetirizina pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência. Detecção a 230nm.

Parâmetros	Resultados obtidos
Intersecção da reta (a)	77247,52
Coefficiente angular (b)	36020,55
Coefficiente de correlação (r)	0,9998
Erro padrão da estimativa relativo (Ser)	644,75
Teste de significância de a	0,0083

5.2.2.2.2. Pesquisa de interferentes na amostra de comprimidos empregando método por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A interferência causada pelos excipientes na determinação do dicloridrato de cetirizina em comprimidos, pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência, foi investigada, através da preparação de soluções do padrão, da amostra simulada e seu placebo, nas concentrações equivalentes a 1000,0 µg/mL da substância em estudo. A Figura 23 mostra os cromatogramas correspondentes a estas soluções.

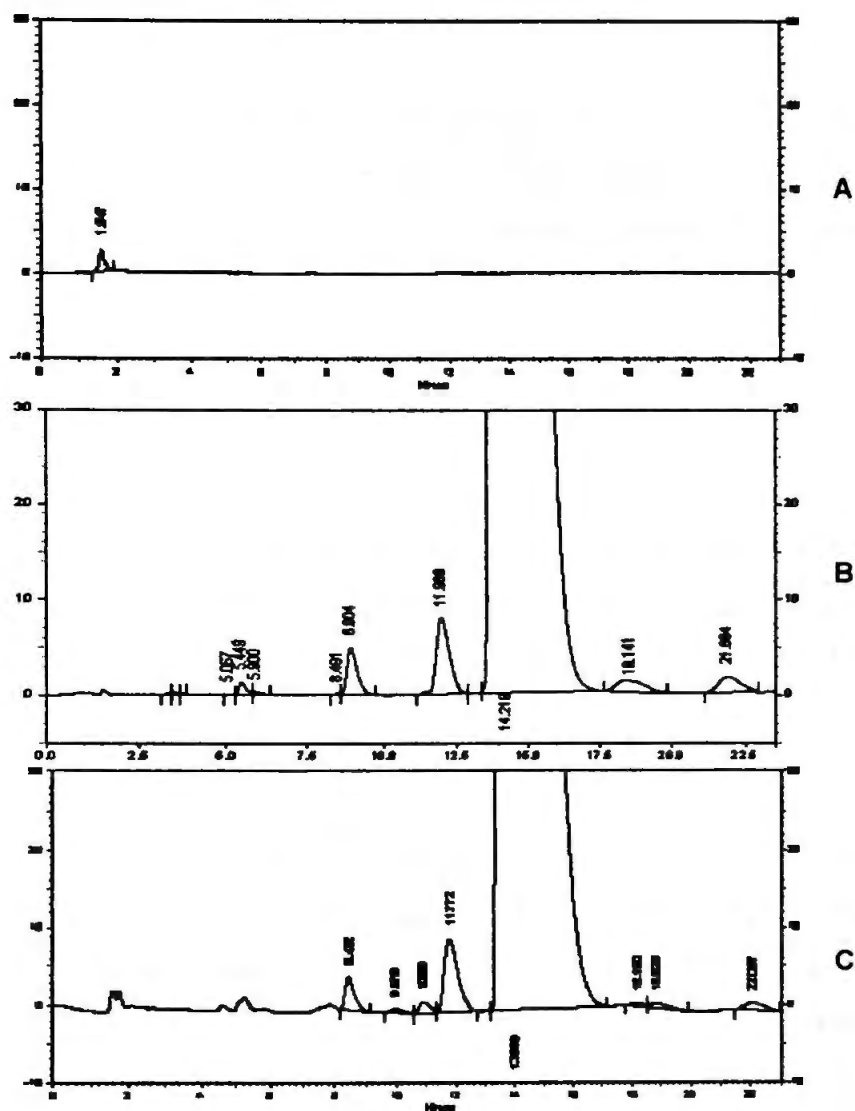


Figura 23: Cromatogramas de interferentes na amostra de comprimidos do dicloridrato de cetirizina empregando método otimizado de CLAE. Condições: Fase móvel: metanol: acetonitrila: fosfato de potássio (0,07M): ácido orto-fosfórico (18:18:64:0,6), pH 2,5; vazão: 1,0 mL/min, detecção a 230 nm; temperatura $19\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$; volume de injeção: 20,0 μL ; coluna Chromolith[®] RP18. Placebo (A); Padrão de dicloridrato de cetirizina 1000,0 $\mu\text{g/mL}$ (B) e amostra de comprimidos de 1000,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina (C).

5.2.2.2.3. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina e substâncias relacionadas na amostra simulada e comerciais A e B de comprimidos, pelo método CLAE

Nas Tabelas 25 e 26 são apresentados os resultados e respectivo tratamento estatístico, obtidos pelo método indicador de estabilidade por CLAE, para determinação do dicloridrato de cetirizina e substâncias relacionadas nas amostras simulada e comerciais (A e B) de comprimidos.

Tabela 25: Resultados obtidos na determinação do teor de dicloridrato de cetirizina e percentuais de substâncias relacionadas nas amostras simulada e comerciais (A e B), pelo método indicador de estabilidade por CLAE.

Amostras	Valor rotulado de dicloridrato de cetirizina. (mg/comp)	Valor encontrado* de dicloridrato de cetirizina (mg/comp)	Teor percentual (%)	Teor percentual de substâncias relacionadas (%)
1	10,0	10,28	102,80	1,12
A	10,0	9,59	95,90	0,38
B	10,0	10,12	101,20	0,50

*Média de dez determinações.

Tabela 26: Análise estatística dos resultados obtidos na determinação do dicloridrato de cetirizina em comprimidos: amostras simulada e comerciais (A e B).

Amostra	Desvio padrão	Desvio padrão relativo (%)	Intervalo de confiança P=95%
1	0,75	0,73	102,80 ± 0,54
A	0,78	0,80	95,90 ± 0,55
B	0,65	0,65	101,20 ± 0,47

5.2.2.2.4. Teste de recuperação

Os resultados da recuperação do dicloridrato de cetirizina pelo método indicador de estabilidade por CLAE, efetuados nas amostras simulada e comerciais (A e B), podem ser observados na Tabela 27.

Tabela 27: Resultados obtidos no teste de recuperação do dicloridrato de cetirizina pelo método indicador de estabilidade (CLAE) das amostras simulada e comerciais (A e B).

Amostras	Quantidade ($\mu\text{g/mL}$)		Recuperação (%)
	Adicionada	Recuperada	
1	500,0	509,95	101,99
	750,0	757,42	100,99
	1000,0	992,60	99,26
A	500,0	484,65	96,93
	750,0	759,15	101,22
	1000,0	1018,70	101,87
B	500,0	510,65	102,13
	750,0	760,35	101,38
	1000,0	994,80	99,48

5.2.2.3. Comparação estatística dos resultados obtidos pelos métodos de espectrofotometria por derivada no ultravioleta (UVD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a determinação do dicloridrato de cetirizina.

As Tabelas 28, 29 e 30 apresentam os parâmetros estatísticos envolvidos nos cálculos efetuados para a comparação da exatidão e da precisão dos métodos propostos, para determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos simulada e comerciais (A e B).

Tabela 28: Resultados experimentais obtidos a partir da determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras simulada e comerciais (A e B).

Amostra	Parâmetro estatístico	Espectrofotometria UV derivada	Cromatografia líquida de alta eficiência
3	\bar{X}	103,40	102,80
	S	0,73	0,73
	n	10	10
A	\bar{X}	96,40	95,90
	S	0,81	0,78
	n	10	10
B	\bar{X}	101,00	101,20
	S	0,77	0,65
	n	10	10

\bar{X} = média dos valores experimentais obtidos na determinação do teor de dicloridrato de cetirizina por comprimido em %.

S = desvio padrão

n= número de determinações.

Tabela 29: Resultados obtidos na comparação da exatidão dos métodos propostos (UVD e CLAE) para a determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras simulada e comerciais (A e B).

Amostra	Métodos: UVD e CLAE
	Valor calculado de t
3	1,81
A	1,43
B	0,41

Valor da Tabela t de student para 18 graus de liberdade e $P=95\%$ é 2,101.

Tabela 30: Resultados obtidos na comparação da precisão dos métodos propostos (UVD e CLAE) para a determinação do dicloridrato de cetirizina nas amostras simulada e comerciais (A e B).

Amostra	Métodos: UVD e CLAE
	Valor calculado de F
3	1,01
A	1,08
B	1,40

Valor da Tabela F de Snedecor, 9/9 graus de liberdade e $P=95\%$ é 3,18.

5.3. Estudo de estabilidade acelerada

5.3.1. Substância de referência (dicloridrato de cetirizina)

5.3.1.1. Análise físico-química

5.3.1.1.1. Cromatografia em camada delgada

Na Figura 24 podem ser visualizados os comportamentos dos padrões expostos ao "stress" hidrolítico e oxidativo.

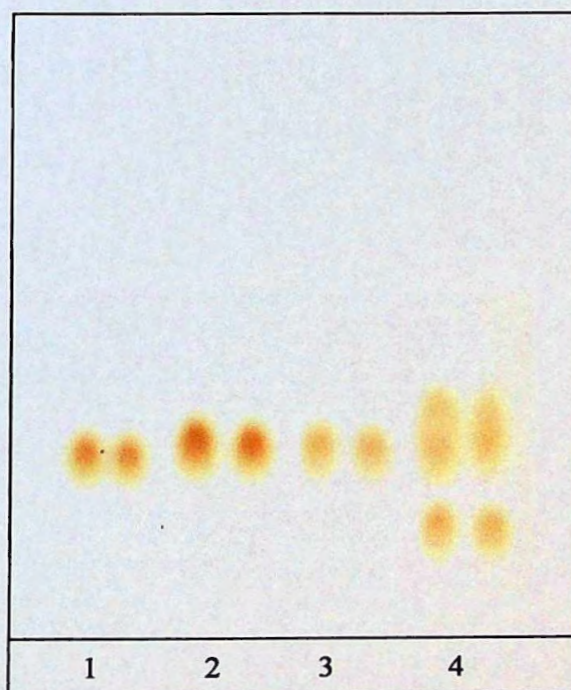


Figura 24: Cromatogramas das soluções padrão de dicloridrato de cetirizina (1000,0 μ g/mL) em metanol (1), HCl 1M (2), NaOH 1M (3) e H₂O₂ (4). Condições: placa de sílica gel GF254 (20 x 20cm), Fase móvel: diclorometano: metanol: amônia (90:10:1).

5.3.1.2. Análise quantitativa

5.3.1.2.1. Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A Figura 25 mostra os cromatogramas correspondentes das soluções padrão de dicloridrato de cetirizina (CZ) (1000,0 μ g/mL) expostas a "stress" hidrolítico e oxidativo.

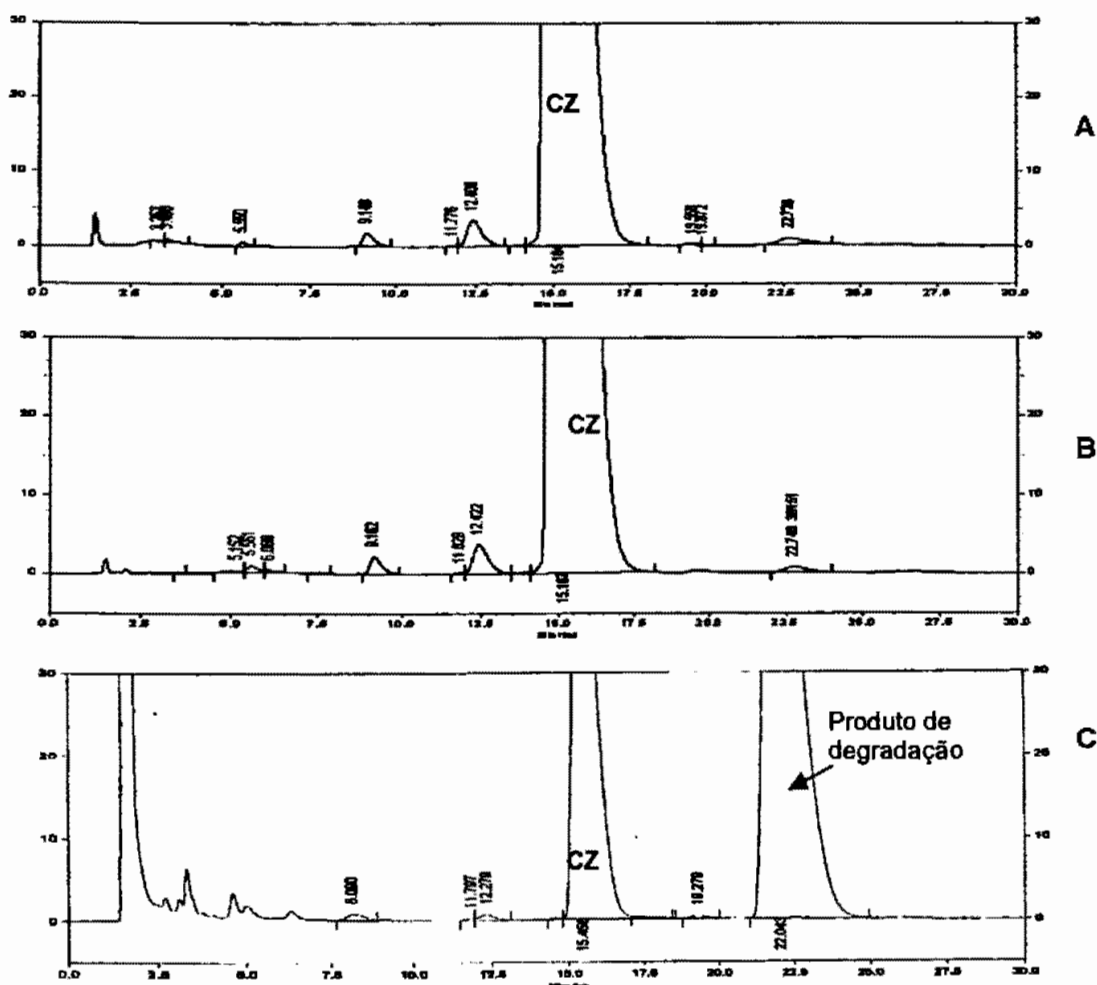


Figura 25: Cromatogramas das soluções padrão de dicloridrato de cetirizina (1000,0 μ g/mL) em HCl 1M (A), NaOH 1M (B) e H₂O₂ (C). Condições: Fase móvel: metanol: acetonitrila: fosfato de potássio (0,07M): ácido orto-fosfórico (18:18:64:0,6), pH 2,5; vazão: 1,0 mL / min, detecção a 230nm, coluna Chromolith RP18, volume de injeção: 20,0 μ L.

5.3.2. Amostra xarope

5.3.2.1. Análise físico-química

5.3.2.1.1. Características organolépticas

Nas amostras de xarope foram observadas mudanças nas características organolépticas. As amostras apresentaram odor mais forte e cor muito mais escura com decorrer do tempo. Na Figura 26 podem ser visualizadas as mudanças no período de 90 dias das amostras submetidas a temperatura de 60°C.

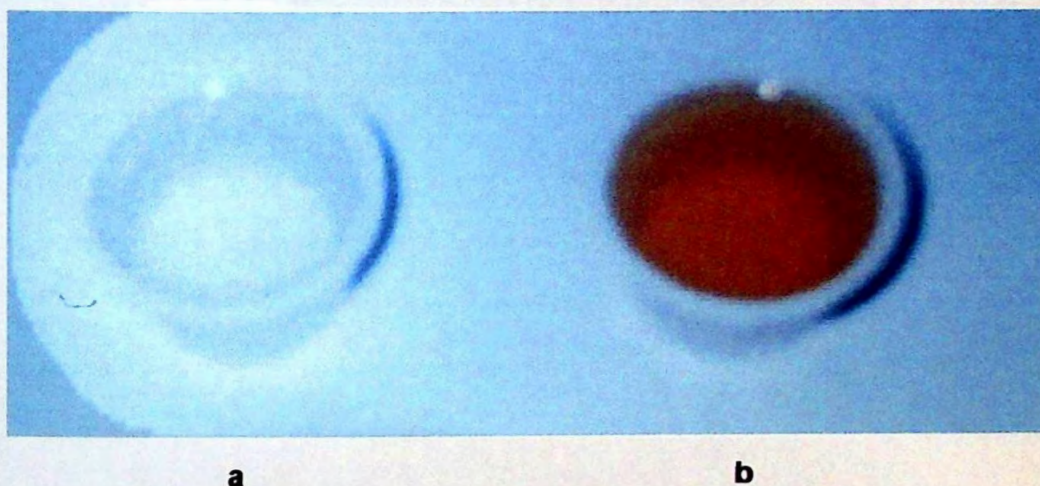


Figura 26: Amostra no tempo zero dias (a) e após degradação térmica a temperatura de $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, no período de 90 dias (b).

5.3.2.1.2. Determinação do pH

A Tabela 31 apresenta o perfil de variação do pH das amostras ao longo do estudo de estabilidade.

Tabela 31: Variação do pH no decorrer do estudo de estabilidade da amostra de xarope, nas diferentes temperaturas submetidas.

Tempo (dias)	Valores de pH		
	40°C	50°C	60°C
0	5,0	5,0	5,0
30	5,0	5,0	4,9
60	4,9	4,3	3,2
90	5,0	3,7	—

5.3.2.2. Análise quantitativa

Na Tabela 32 e na Figura 27 são apresentados os valores experimentais obtidos na determinação por espectrofotometria derivada no ultravioleta da amostra de xarope de dicloridrato de cetirizina submetida a temperaturas de 40 °C, 50 °C e 60 °C.

Tabela 32: Valores obtidos na determinação por espectrofotometria derivada no ultravioleta da amostra de xarope de dicloridrato de cetirizina submetida a temperaturas de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tempo (dias)	Concentração obtida (%)		
	40 °C	50 °C	60 °C
0	103,26	103,26	103,26
10	103,40	102,70	101,63
30	102,49	99,66	96,05
60	99,36	90,50	—
90	95,42	—	—
180	74,44	—	—

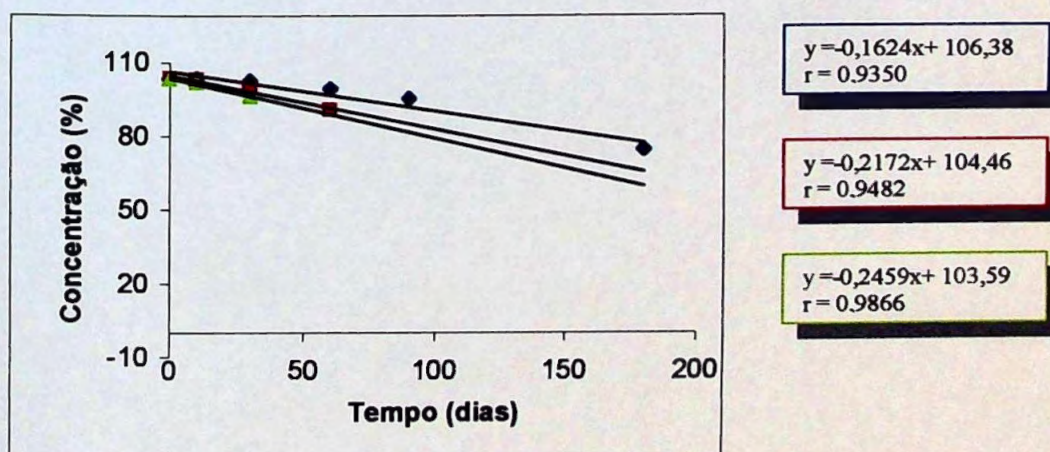


Figura 27: Perfil de decaimento cinético da concentração (%) de dicloridrato de cetirizina vs tempo (dias), das amostras de xarope submetidas a armazenagem nas temperaturas de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (\blacklozenge), $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ (\blacksquare) e $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ (\blacktriangle), calculados a partir do método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta.

5.3.2.2.1. Determinação dos parâmetros cinéticos e período de vida útil a 25°C

A Tabela 33 apresenta os valores de constante de velocidade (K) e da energia de ativação, calculados de acordo com as equações de cinética química de zero ordem. Estes dados foram extrapolados para determinação do período de vida útil ($t_{90\%}$) na temperatura de 25°C.

Tabela 33: Parâmetros calculados de acordo como as equações de cinética química de zero ordem, a partir dos dados obtidos nas determinações da amostra de xarope nas temperaturas de 40 °C, 50 °C e 60 °C com o método espectrofotométrico por derivada no ultravioleta.

t °C	Velocidade de reação (K)	Energia de ativação (ΔE) (cal/mol)
40°C	0,1601	5707,81
50°C	0,2127	2607,97
60°C	0,2403	4205,88

O valor $t_{90\%}$ na temperatura de 25°C, obtido pelo método gráfico foi de 580 dias \cong 1,6 ano para a amostra de xarope simulada de dicloridrato de cetirizina. O guia para Avaliação de Dados de Estabilidade, Q1E do ICH, indica que o período de vida útil de uma determinada formulação poderá ser calculado como duas vezes, daquele extrapolado (ICH, 2003b), dando como resultado um prazo de validade de 3,2 anos.

5.3.3. Amostra de comprimidos

5.3.3.1. Análises física e físico-química

5.3.3.1.1. Características organolépticas

A Figura 28 apresenta os comprimidos recém preparados e as alterações nos períodos de 90 dias submetidos a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 90\% \text{ UR}$.

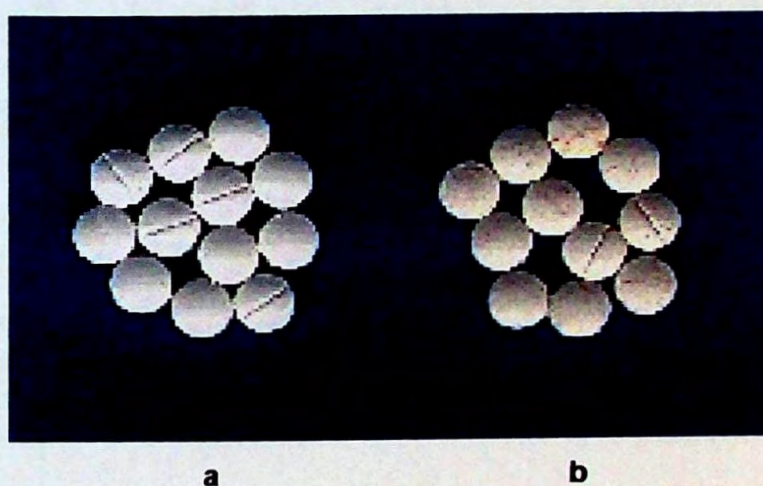


Figura 28: Comprimidos no tempo zero (a); Comprimidos após 90 dias submetidos a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ com $90\% \pm 5\% \text{ UR}$ (b).

5.3.3.1.2. Determinação do peso médio e da dureza na amostra de comprimidos

Na tabela 34 apresentam-se os dados obtidos da determinação do peso médio e da dureza na amostra de comprimidos submetidas a condições altas de temperatura e umidade.

Tabela 34: Determinação do peso médio e da dureza da amostra de comprimidos no decorrer do estudo de estabilidade.

Condições de armazenamento				
Temp o	40°C ± 2°C; 75% ± 5% UR		50°C ± 2°C 90% ± 5% UR	
(dias)	Peso médio – DPR (mg - %)	Dureza – DPR (kgf - %)	Peso médio – DPR (mg - %)	Dureza – DPR (kgf - %)
0	129,25 - 2,58	7,20 - 7,73	129,25 - 2,58	7,20 - 7,73
30	130,88 - 5,00	6,55 - 7,37	132,40 - 5,54	6,20 - 6,93
60	128,64 - 5,83	6,20 - 8,00	131,58 - 3,11	6,70 - 11,06
90	130,36 - 4,82	6,44 - 10,34	129,16 - 3,55	6,40 - 6,81
180	129,41 - 4,12	6,18 - 7,85	---	---

Os resultados obtidos das amostras de comprimidos submetidas a degradação térmica são apresentados na Tabela 35.

Tabela 35: Determinação do peso médio e dureza da amostra de comprimidos, submetida à degradação térmica no decorrer do estudo de estabilidade em diferentes temperaturas.

Tempo (dias)	Condições de Armazenamento			
	40 °C ± 2 °C		50 °C ± 2 °C	
	Peso médio- DPR (mg - %)	Dureza- DPR (kgf - %)	Peso médio - DPR (mg - %)	Dureza- DPR (kgf - %)
0	129,25 - 2,58	7,20 - 7,73	129,25 - 2,58	7,20 - 7,73
30	131,77 - 3,87	7,09 - 9,40	130,40 - 3,81	6,85 - 6,92
60	127,55 - 5,22	6,92 - 7,60	128,00 - 2,10	6,94 - 8,84
90	128,74 - 4,00	6,45 - 10,27	127,26 - 2,80	6,50 - 6,29

5.3.3.1.3. Desempenho de dissolução da amostra de comprimidos

Com a finalidade de observar como o tempo e a temperatura influenciam no perfil de dissolução de uma determinada formulação, foi aplicada a metodologia de dissolução anteriormente proposta, para determinação da amostra de comprimidos. Este teste foi aplicado nas amostras submetidas a temperaturas de 40 °C ± 2 °C e 50 °C ± 2 °C. As Tabelas 36 e 37 apresentam os resultados obtidos deste estudo e nas Figuras 29 a 32 podem ser visualizados os gráficos.

Tabela 36: Porcentagem de dicloridrato de cetirizina dissolvida em função do tempo na amostra de comprimidos submetida a degradação na temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Intervalos de análise 0, 30, 60 e 90 dias. Empregando o método quantitativo por espectrofotometria derivada no ultravioleta.

Tempo (min)	% Dissolvida			
	Intervalos das coletas			
	0dias	30dias	60dias	90dias
0	0,00	0,00	0,00	0,00
1	6,73	2,70	1,96	2,71
3	60,34	24,34	20,45	6,30
6	94,23	64,72	65,00	12,39
9	99,06	80,32	93,42	20,08
12	100,07	90,73	101,99	36,76
15	101,78	97,71	105,72	57,06
20	102,78	104,66	106,60	79,63
25	102,62	104,97	106,92	92,87
30	101,55	103,89	105,15	99,75

*Média de três determinações.

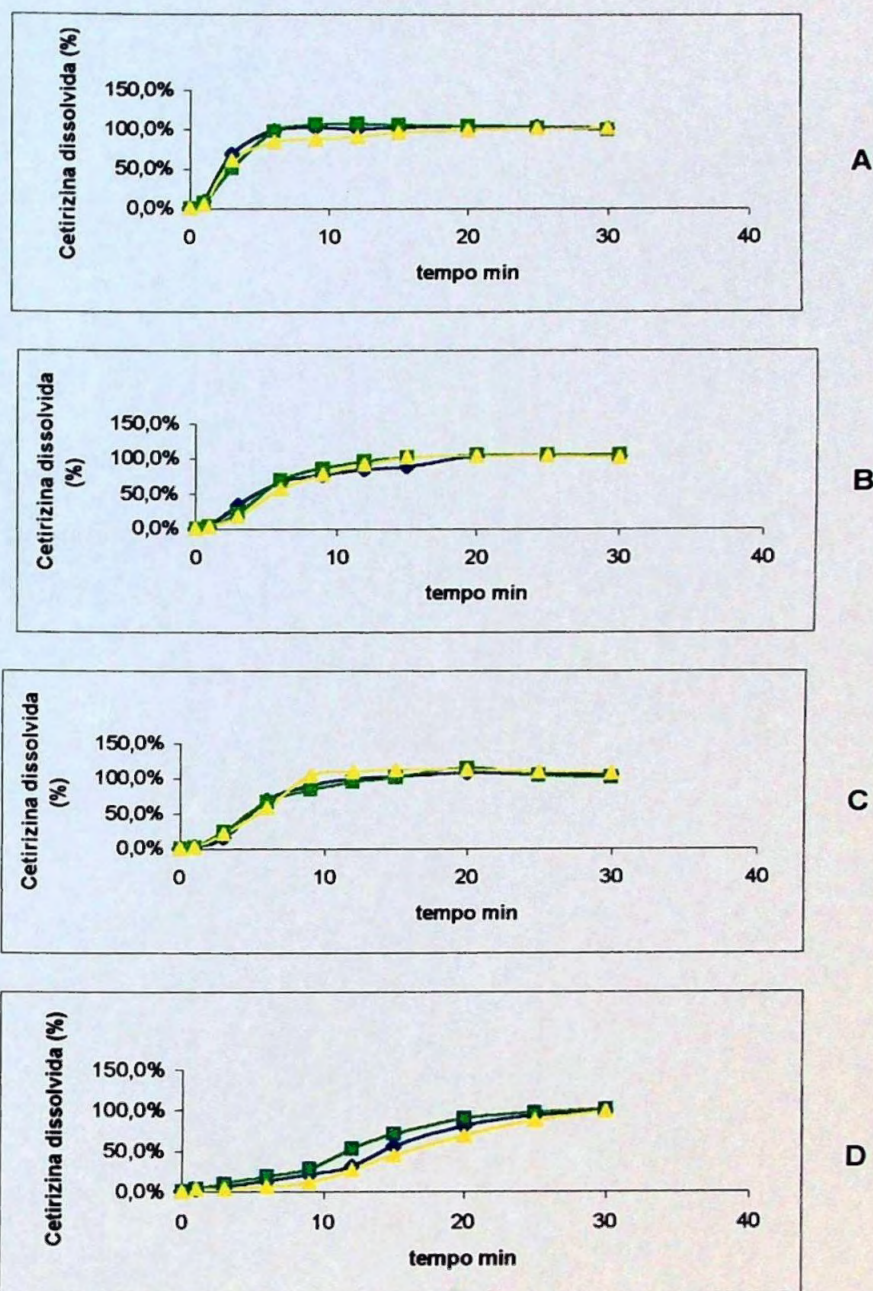


Figura 29: Perfis de dissolução da amostra de comprimidos submetidas a degradação na temperatura de 40 °C. Análises realizadas em intervalos de tempo de zero dias (A), 30 dias (B), 60 dias (C) e 90 dias (D). Os perfis correspondem ao teste de dissolução realizado com três comprimidos, respectivamente. Método analítico: Espectrofotometria derivada no ultravioleta.

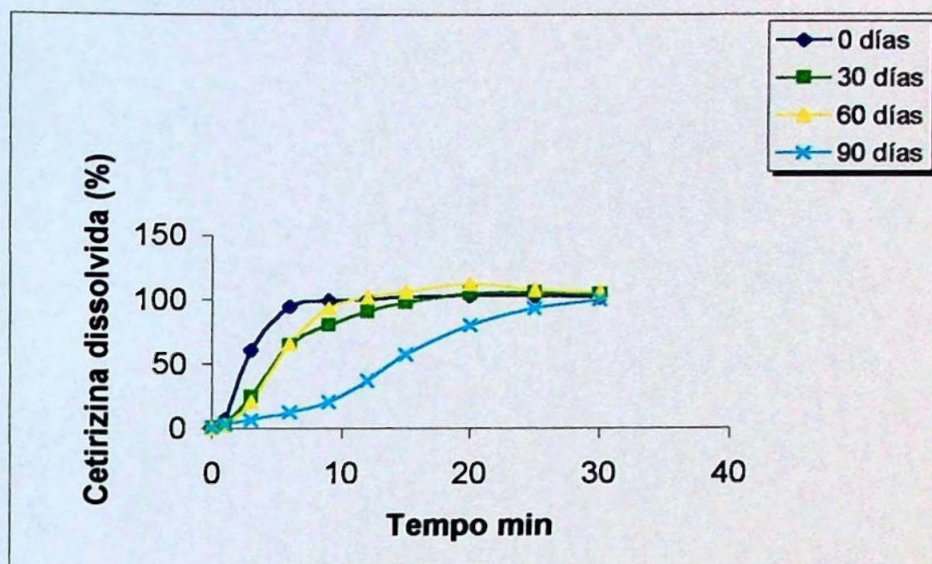


Figura 30: Perfis de dissolução do dicloridrato de cetirizina a partir da amostra simulada submetida a degradação na temperatura de 40°C. Análises realizadas em intervalos de tempo de 0, 30, 60 e 90 dias. Média da determinação de 3 comprimidos. Método analítico: Espectrofotometria derivada no ultravioleta.

Tabela 37: Porcentagem de dicloridrato de cetirizina dissolvido em função do tempo, a partir da amostra simulada, submetida à degradação na temperatura de 50 °C. Intervalos de análise 0, 30, 60 e 90 dias. Método analítico: Espectrofotometria derivada no ultravioleta.

Tempo (min)	% Dissolvida			
	Intervalos das coletas			
	0dias	30dias	60dias	90dias
0	0,00	0,00	0,00	0,00
1	6,73	1,67	2,80	2,50
3	60,34	16,87	22,76	13,09
6	94,23	49,45	54,33	31,12
9	99,06	70,84	71,65	48,92
12	100,07	85,05	82,18	61,36
15	101,78	96,59	87,16	72,31
20	102,78	101,07	92,17	87,13
25	102,62	101,38	98,02	93,30
30	101,55	101,10	101,83	96,20

*Media de três determinações.

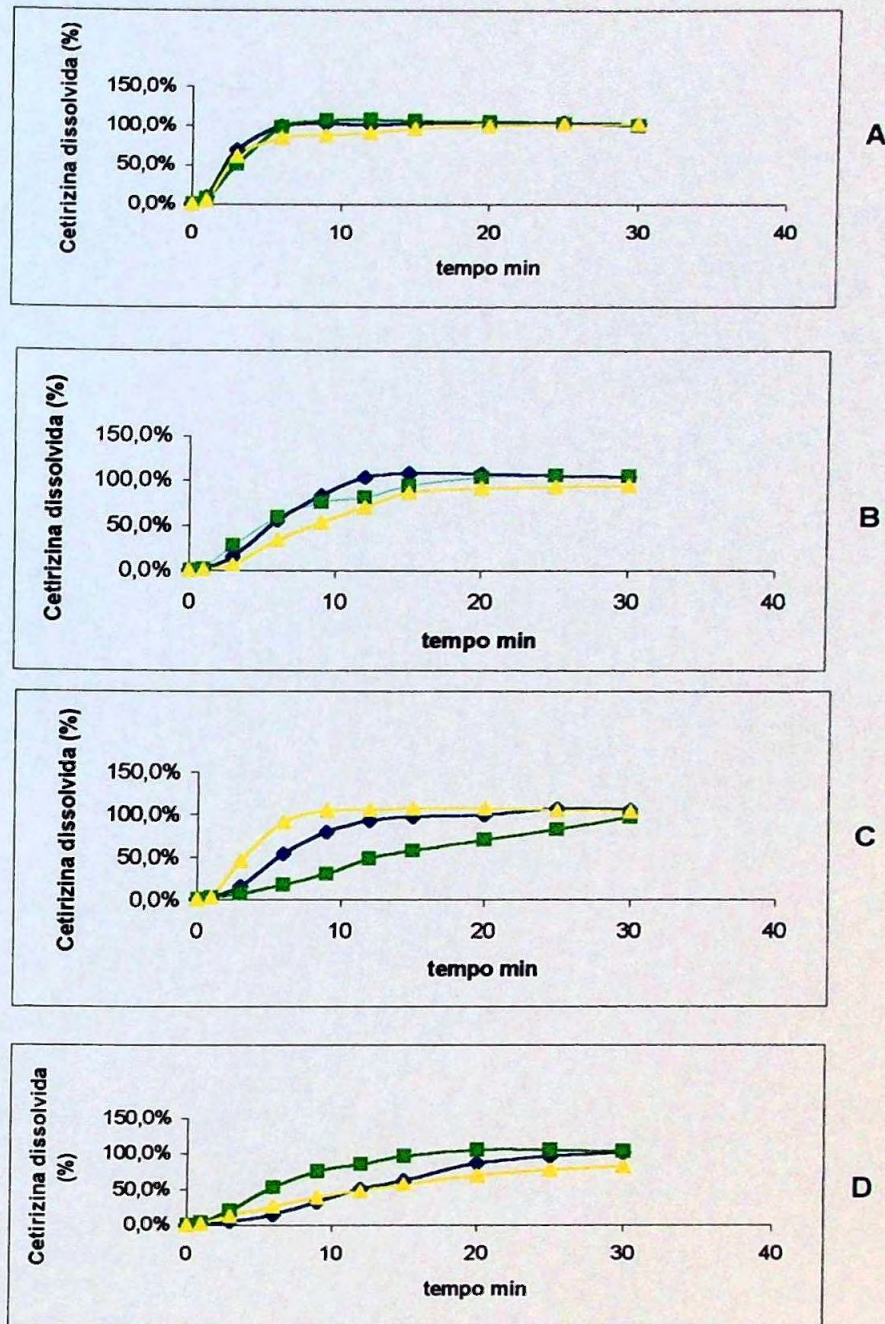


Figura 31: Perfis de dissolução da amostra de comprimidos submetidos à degradação na temperatura de $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Análises realizadas em intervalos de tempo de zero dias (A), 30 dias (B), 60 dias (C) e 90 dias (D). O perfil corresponde ao teste de dissolução realizado a três comprimidos respectivamente. Método analítico: Espectrofotometria derivada no ultravioleta.

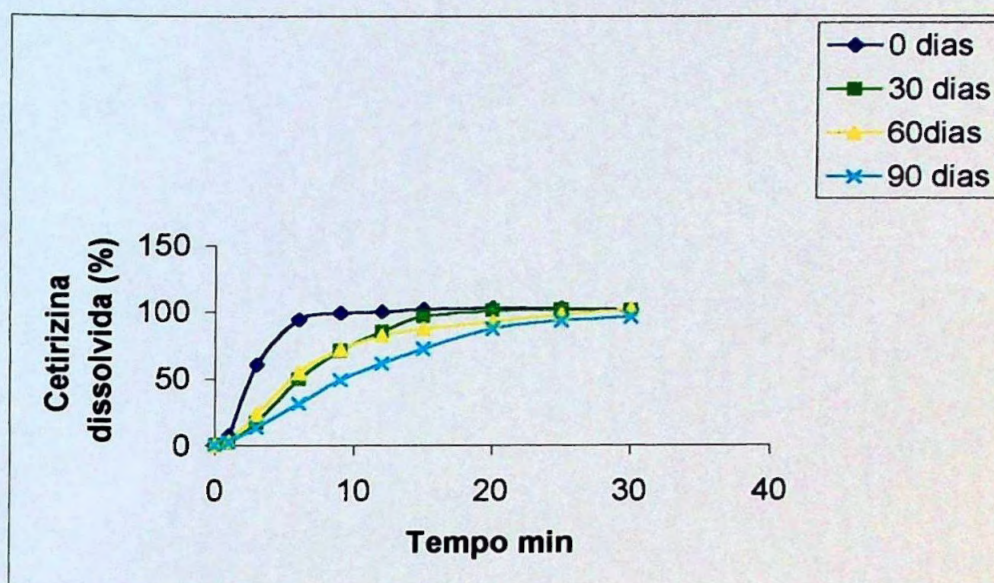


Figura 32: Perfis de dissolução do dicloridrato de cetirizina a partir da amostra simulada submetida a degradação na temperatura de $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Análises realizadas em intervalos de tempo de 0, 30, 60 e 90 dias. Média da determinação de 3 comprimidos. Método analítico: Espectrofotometria derivada no ultravioleta.

5.3.3.1.3.1. Avaliação do perfil de dissolução

As Tabelas 38 e 39 apresentam os resultados da aplicação dos modelos cinéticos aos perfis de dissolução do dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos submetidas a degradação térmica de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tabela 38: Resultados do estudo de regressão, aplicando cinética de zero ordem e cinética de primeira ordem, aos perfis de dissolução das amostras de comprimidos submetidas às temperaturas de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Tempo (dias)	Índice de Correlação			
	40 °C±2°C		50 °C± 2°C	
	Zero ordem	Primeira ordem	Zero ordem	Primeira ordem
0	0,8122	0,9704	0,8122	0,9704
30	0,9301	0,9921	0,9417	0,9758
60	0,9271	0,9622	0,8048	0,9916
90	0,9557	0,8726	0,9950	0,9596

Tabela 39: Parâmetros obtidos a partir das equações das retas determinadas dos modelos cinéticos aplicados nas amostras de comprimidos submetidas a degradação térmica nas temperaturas de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ nos períodos de 0, 30, 60 e 90 dias.

Tempo (dias)	Parâmetros Cinéticos					
	40°C±2°C			50°C± 2°C		
	K (min-1)	t _{50%}	t _{85%}	K (min-1)	t _{50%}	t _{85%}
0	0,3378	2,05	5,74	0,3378	2,05	5,74
30	0,2598	2,67	9,39	0,2669	2,60	9,44
60	0,3082	2,25	7,88	0,1302	5,32	15,02
90	3,9633	12,59	25,96	5,5726	8,63	17,15

K= constante de velocidade de dissolução; t_{50%} = tempo médio necessário para dissolução de 50% do dicloridrato de cetirizina nos comprimidos; t_{85%} = tempo médio necessário para dissolução de 85% do dicloridrato de cetirizina nos comprimidos.

A Tabela 40 e Figura 33 apresentam os resultados obtidos da eficiência de dissolução calculados a partir da área sob a curva dos perfis de dissolução das amostras de comprimidos simuladas submetidas a degradação térmica.

Tabela 40: Porcentagem de eficiência de dissolução (ED%), calculados a partir da área sob a curva dos perfis de dissolução das amostras simuladas de comprimidos submetidas a degradação térmica de 40 °C e 50 °C nos períodos de 0, 30, 60 e 90 dias.

Tempo (dias)	Eficiência de dissolução (ED%)	
	40°C±2°C	50°C± 2°C
0	90,97	90,97
30	82,36	77,30
60	86,29	74,66
90	52,25	63,09

Média de três determinações

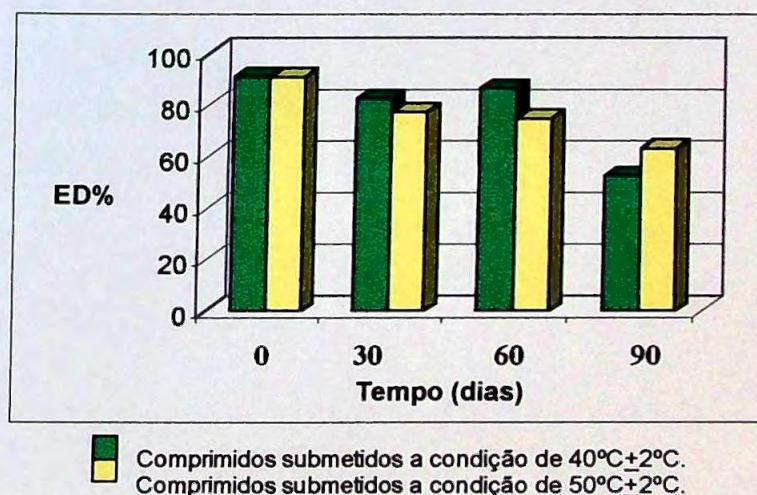


Figura 33: Valores de eficiência de dissolução (ED%), calculados a partir das áreas sob a curva (ASC) dos perfis de dissolução dos comprimidos expostos as condições de 40 °C ± 2 °C e 50 °C ± 2 °C, nos períodos de 0, 30, 60 e 90 dias.

5.3.3.2. Análise quantitativa

5.3.3.2.1. Determinação do teor de dicloridrato de cetirizina na amostra submetidas ao estudo de estabilidade.

Foram realizadas as determinações do teor das amostras de comprimidos mediante as metodologias de espectrofotometria derivada em ultravioleta, padronizada e validada nos itens 4.2.3.1.3 e 5.1.2.2. e o método indicador de estabilidade por CLAE padronizada e validada nos itens 4.2.3.2. e 5.1.2.3. Os resultados foram obtidos nos intervalos de 0, 30, 60, 90 e 180 dias. A Tabela 41 apresenta as porcentagens obtidas destes resultados.

Tabela 41: Valores experimentais obtidos no estudo de estabilidade das amostras de comprimidos, nos intervalos de 0, 30, 60, 90 e 180 dias nas condições de $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 75\% \pm 5\%$ e $50\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 90\% \pm 5\%$, empregando a espectrofotometria derivada ultravioleta (UVD) e do método indicador de estabilidade por CLAE.

Tempo (dias)	Porcentual obtido (%)			
	$40\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 75\% \pm 5\%$		$50\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 90\% \pm 5\%$	
	UVD	CLAE	UVD	CLAE
0	103,40	102,80	103,40	102,80
30	101,81	101,23	105,70	105,60
60	102,24	102,38	104,47	103,00
90	101,04	99,52	100,42	100,01
180	95,80	95,00	---	---

5.3.3.2.2. Determinação da porcentagem de substâncias relacionadas e produtos de degradação

A Tabela 42 apresenta as porcentagens de substâncias relacionadas e produto de degradação oxidativo obtidos com o método indicador de estabilidade por CLAE das amostras de comprimidos submetidas ao estudo de estabilidade.

Tabela 42: Porcentagens totais de substâncias relacionadas e produto de degradação oxidativo, das amostras simuladas de comprimidos submetidas a condições de $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 75\% \pm 5\%$ e $50\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 90\% \pm 5\%$ pelo método indicador de estabilidade por CLAE.

Tempo dias	Porcentuais obtidos (%)			
	$40\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 75\% \pm 5\%$		$50\text{ °C} \pm 2\text{ °C} / 90\% \pm 5\%$	
	Substâncias relacionadas	Produto de degradação	Substâncias relacionadas	Produto de degradação
0	0,98	0,22	0,98	0,22
90	—	—	1,12	0,21
180	1,18	0,21	—	—

DISCUSSÃO

6.1. Revisão

O dicloridrato de cetirizina é um anti-histamínico de segunda geração, que por apresentar características altamente polares, atravessa a barreira hematoencefálica em poucas quantidades, causando pouca sedação e baixa atividade anticolinérgica (CONDINO et al., 1996; DERENDORF et al., 1995; GENGO et al., 1987a,b).

Até 1999, a maioria dos trabalhos científicos referentes a este fármaco envolviam estudos clínicos e determinações em fluidos biológicos (MACEK et al., 1999; MONCRIEF et al., 1992; RICHARDS et al., 1990; SPENCER et al., 1993). Já nos últimos 4 anos as determinações analíticas em preparações farmacêuticas aumentaram bastante (KANUMULA et al., 2001; MAHGOUB et al., 2002; MAKHIJA et al., 2001). A literatura revela o emprego de métodos por complexação com determinações espectrofotométricas (GOWDA et al., 2001; GAZY et al., 2002) e uma grande quantidade de métodos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) (PAW et al., 2002; RUDAZ et al., 2003; WEN et al., 2001), que com pequenas variações nas proporções da fase móvel e quase sempre mantendo o pH em 3,0, permitem a determinação do dicloridrato de cetirizina em preparações farmacêuticas de maneira precisa e exata.

Em nosso levantamento bibliográfico, constatou-se que até o momento não foram realizados estudos de estabilidade do dicloridrato de cetirizina em preparações farmacêuticas, só foi encontrado um trabalho por cromatografia em camada delgada de alta eficiência, no qual se expõe a substância pura, a stress hidrolítico e oxidativo, apresentando produtos de degradação oxidativos, possível resultado da oxidação do átomo de carbono unido ao anel de piperazina (MAKHIJA et al., 2001).

Com o propósito de efetuar o estudo de estabilidade nossa revisão bibliográfica foi baseada em: Guia para Realização de Estudos de Estabilidade, RE nº 485, 2002; Estabilidade de Produtos Farmacêuticos - Mercosul Res Nº53/96; Stability Testing of New Drug Substances and Products - Q1A(R2); Stability Data Package for Registration Applications in Climatic Zones III and IV – Q1F; Evaluation for Stability Data – Q1E e Stability Testing of Pharmaceuticals Products Containing Well Established Drug Substances in Conventional Dosage Forms (WHO Technical Report Series, Nº 863, Annex 5). (BRASIL, 2002; MERCOSUL, 2000; ICH, 2003a; ICH, 2003b; ICH 2003c; WHO, 2001; WOLFGANG, 1998).

As condições de armazenamento para as preparações farmacêuticas de comprimidos foram de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ com 75% de UR, durante seis meses e $50^{\circ}\text{C}, \pm 2^{\circ}\text{C}$ com 90% de UR durante 3 meses como é indicado no Guia para Realização de Estudos de Estabilidade, RE nº485, 2002 , para preparações em acondicionamentos semipermeáveis (BRASIL, 2002b).

As amostras também foram submetidas a condições de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, sem aumento de umidade, para observar principalmente como o fator temperatura influência nas características físico-químicas da formulação, de maneira a mostrar a importância de manter a formulação dentro das condições ambientais estabelecidas, desde sua fabricação até o momento de chegar ao paciente, porque muitas vezes almoxarifados e farmácias, mantém temperaturas adequadas para conservação da formulação, não sendo assim na maioria dos casos nos veículos para transporte de medicamentos.

A amostra de xarope foi submetida a condições de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$; $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $60^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Excluiu-se a exposição a altas porcentagens de umidades visto que a Res. Nº 485 indica que amostras envasadas em materiais de acondicionamentos impermeáveis a umidade, não precisam ser expostas a este

tipo de condição. Foram empregadas estas temperaturas de acordo com o guia Q1A (R2) (ICH, 2003a) que sugere para predição do prazo de validade as amostras devem ser submetidas a temperaturas com incrementos em 10°C. Estudos estatísticos (CARSTENSEN, 1974; HILL et al., 1981; LACHMAN; 1986; GIL-ALEGRE et al., 2001) tem mostrado que para construir um gráfico para extrapolação do prazo de validade no mínimo devem ser empregadas 3 temperaturas.

6.2. Métodos

6.2.1. Análise físico - química

Para identificação do dicloridrato de cetirizina empregado como substância de referência, foi empregado o método por espectroscopia na região do infravermelho. Verificou-se que os principais picos das substância em exame estavam em 719,54 cm⁻¹ e 758,09 cm⁻¹ dos grupos aromáticos, 1019,98 cm⁻¹ do éter 1760,26 cm⁻¹ do grupo carbonila e 2371,30 cm⁻¹ do grupo hidroxila (GONÇALVES et al., 1995; NAKAMOTO, 1986; SILVERSTEIN et al., 1994).

A reação com nitrato de prata em meio ácido, apresentou precipitado branco, provando que a cetirizina estava na forma de cloridrato.

Também foi realizada a absorção no ultravioleta. Um pico de absorção máxima foi observado a 231nm em HCl, 0,1M.

Para a identificação do dicloridrato de cetirizina matéria-prima por cromatografia em camada delgada, foi empregada uma placa de sílica GF254 (20 x 20 cm), fase móvel: diclorometano: metanol: amônia (90:10:1). A Farmacopéia Européia recomenda a comparação do dicloridrato de cetirizina

(matéria-prima) com um padrão de referência primário. Neste caso, foi comparado com outras duas matérias-primas de dicloridrato de cetirizina cedidas por outros laboratórios (TAYMES, 2001). Obtiveram-se valores de Rfs entre 0,29 e 0,31. Estes resultados podem ser visualizados na Figura 4.

Para determinação das quantidades de impurezas e substâncias relacionadas aos processos de sínteses na matéria-prima a Farmacopéia Européia 4ed. emprega uma coluna de sílica gel de 0,25 m x 4,6 mm de diâmetro, fase móvel: acetonitrila: água: ácido sulfúrico (93: 6,6: 0,4) com vazão de 1,0 mL/min (EUROPEAN PHARMACOPOEIA, 2001). Para fins de nosso estudo foi empregado o método validado no item 4.2.2.2.2.2. Observou-se que as quantidades totais de impurezas do dicloridrato de cetirizina matéria-prima, estão em porcentagens de 1,2%, muito acima do estipulado pela Farmacopéia Européia 4ed., a qual indica que deve ser no máximo 0,3%.

A amostra de xarope recém preparada apresentou cor translúcida (como pode ser observada na Figura 26), odor de cereja e o pH foi ajustado a 5,0. Os comprimidos simulados apresentaram coloração branca homogênea e inodoros.

A determinação do peso médio da amostra simulada e comerciais (A e B) do dicloridrato de cetirizina foi realizada de acordo com a Farmacopéia Americana XXV ed. (2001) , que preconiza desvio padrão relativo máximo de 7,5% quando o teor do conteúdo declarado está entre 10,0mg e 100,0mg. Os valores obtidos indicaram que os mesmos encontram-se dentro dos limites especificados pelo referido compêndio (Tabela 6).

A análise de dureza da amostra simulada e comerciais (A e B) foram realizadas de acordo com a Farmacopéia Brasileira 4 ed., que estabelece valor mínimo de 3,0kgf. Os resultados obtidos (Tabela 7) encontram-se dentro dos limites estabelecidos para as amostras comerciais. Já a amostra de comprimidos simulada apresentou desvio padrão relativo acima do 5,0%.

6.2.2. Análise quantitativa

6.2.2.1. Espectrofotometria derivada no ultravioleta

Levando-se em consideração os valores de $pka_1= 2,19$; $pka_2= 2,93$ e $pka_3= 8,00$ para o dicloridrato de cetirizina (BOUCHARD et al., 2001), empregou-se a solução de ácido clorídrico 0.1 M (pH= 1,2) para dissolução, garantindo a forma não dissociada no momento de realizar as determinações espectrofotométricas, pois dependendo da espécie em solução, os valores de absorbância podem ser variáveis.

Foi escolhida a derivada de primeira ordem visto que, nos testes realizados com as derivadas de segunda e terceira ordens, obtiveram-se valores bastante discrepantes, quando comparados com os valores de primeira ordem. A diferença pode ser devida ao fato de que nas derivadas de segunda e terceira ordens, pelo alto grau de ruído detectado, de ter sido utilizado o alisamento de curvas, tratamento que, muitas vezes, produz erros devido a omissão de certas partes do espectro original (O'HAVER et al., 1976; SAVITZKY et al. , 1964; GRIFFITHS et al., 1982) .

Construíram-se os espectros de primeira derivada em intervalos de delta lambada de 8 nm dando boa resolução, na velocidade de varredura de 500 nm/min (Figura 7).

6.2.2.1.1. Curvas de Ringbom e de calibração

Mediante a construção da curva de Ringbom (Tabela 8 e Figura 6), a partir das absorvâncias obtidas, nas concentrações de 4,0 e 80,0 $\mu\text{g/mL}$ do padrão de dicloridrato de cetirizina, observamos que as concentrações

seguiam a lei de Beer e que a a zona de transmitância para a qual o erro relativo na concentração era mínima (DAY et al., 1989; GONÇALVES, 1983). A partir destes resultados foram escolhidas as concentrações de 5,0 a 30,0 $\mu\text{g/mL}$ para construção das curvas de calibração derivadas, que apresentarão boa linearidade com $r= 0,999$ e valores baixos de erro padrão relativo da estimativa. Para a quantificação, utilizou-se o ponto médio da reta de calibração correspondente a 20,0 $\mu\text{g/mL}$ de dicloridrato de cetirizina que apresenta absorvância de 0,733.

O método espectrofotométrico por derivada para quantificação da amostra de xarope foi o ponto de anulação a 225,80 nm e em comprimidos foi o zero- pico a 239,80 nm, ambos desenvolvidos a partir de trabalhos encontrados na literatura. (BENETON, 1990; BOSCH et al., 1995; HACKMANN et al., 1991; LEVILLAIN et al., 1989; McWILLIAM, 1969; SANCHEZ et al., 1988).

6.2.2.1.2. Validação da metodologia por espectrofotometria derivada no ultravioleta (UVD) para a amostra de xarope

Os espectros diretos das soluções de dicloridrato de cetirizina em 20,0 $\mu\text{g/mL}$, podem ser visualizados na Figura 9. Observa-se que os excipientes presentes na preparação produzem um aumento de absorção do dicloridrato de cetirizina na amostra de 0,733 para 1,52 no comprimento de onda a 231nm. Aplicando-se a primeira derivada nos espectros diretos, observou-se que o dicloridrato de cetirizina apresenta um vale a 225,80 nm. Nesse mesmo ponto a derivada de primeira ordem da amostra placebo é anulada, característica aproveitada para aplicação do método “*zero-crossing*”, que corresponde ao ponto de anulação dos excipientes, no qual foi determinado o dicloridrato de cetirizina, na amostra de xarope (TAYMES, 2001).

A amostra simulada de xarope na primeira derivada a 225,80 nm apresentou teor de 103,0%, e o desvio padrão relativo calculado (para 10

determinações) foi de 0,43%, ficando dentro das normas estabelecidas oficialmente (BRASIL, 2003a; BRITAIN, 1998; BRUCE et al., 1998; ICH, 1994a).

O teste recuperação, realizado segundo as normas da "Association of Official Analytical Chemists" (AOAC, 1990), relacionado com a determinação da exatidão do método, foi aplicado na amostra simulada de xarope (Tabela 13), apresentando valores dentro dos limites especificados.

6.2.2.1.3. Validação da metodologia por espectrofotometria derivada no ultravioleta (UVD) para as amostras de comprimidos

Foi realizada a pesquisa de interferentes, a partir da determinação de soluções padrão, amostra e placebo nas concentrações equivalentes a 20,0 µg/mL de dicloridrato de cetinazina, observando-se que nesta concentração a determinação pelo método direto é possível. No entanto, observou-se certo tipo de interferência, (Figura 12), que em situações críticas poderia ser a causa da rejeição de um determinado lote. Aplicando-se a primeira derivada nos espectros diretos, esta interferência é completamente eliminada como pode ser observado na Figura 13. O comprimento de onda escolhido para determinação das amostras de comprimidos foi de 239,80nm.

Os teores das amostras de comprimidos são apresentados na Tabela 16 e os resultados do tratamento estatístico para determinação do desvio padrão relativo destas amostras são apresentados na Tabela 17, também apresentando valores dentro dos especificados pelas normas oficiais (BRASIL, 2003a; BRITAIN, 1998; BRUCE et al., 1998; ICH, 1994a).

Os resultados do teste de recuperação para amostras simulada e comerciais são apresentados na Tabela 18, os valores oscilaram entre

porcentagens de 99,40 a 100,80%, também dentro dos recomendados pelas normas oficiais (AOAC, 1990).

6.2.2.1.4. Teste de dissolução

Dentro da metodologia por espectrofotometria derivada no ultravioleta com determinação a 239,80 nm, foi também padronizado um método de dissolução. Este método foi preparado a partir da RES nº901 (BRASIL, 2003b; SKOUG, et al. 1997), a qual sugere que para fármacos do caso I, como é a cetirizina, a dissolução em HCl 0,1M deve ser de 85% em até 15 minutos, valor obtido com a amostra simulada e amostra comercial de referência.

No teste de dissolução de um único ponto, que corresponde a um teste de controle de qualidade de rotina (BRASIL, 2003b; KAZUE-KANO, 2002), as amostras simulada e comercial (A), apresentaram valores maiores de 85% do teor em 30 minutos (Tabela 19), demonstrando a uniformidade de cada uns dos lotes em estudo.

Foram construídos os perfis de dissolução de cada uma das amostras. Os estudos preliminares com 6 comprimidos, permitiram a comparação dos perfis de dissolução das amostras simulada e comercial A, aplicando o método de modelos independentes, recomendado pela RES nº901-2003. Quando as determinações foram realizadas com 12 comprimidos as porcentagens dissolvidas no terceiro ponto do perfil de dissolução para ambos comprimidos excedeu os valores de 65%, tomando inviável a comparação destas duas amostras mediante este método.

A partir dos perfis de dissolução foram determinados os valores de eficiência de dissolução para cada uma das amostras, que apresentaram valores de 89,24% para amostra simulada e 84,07% para amostra comercial A.

Este dado nos permite observar, mediante aplicação de testes estatísticos, se existe diferença significativa entre diferentes lotes.

Também foram aplicados modelos cinéticos aos perfis de dissolução com o propósito de calcular a constante de velocidade de dissolução (K), $t_{50\%}$ e $t_{85\%}$. A amostra simulada apresentou $r = 0,8735$, quando aplicado o modelo de zero ordem e $r = 0,9819$, quando aplicado o modelo de primeira ordem. Foi escolhido o modelo de primeira ordem para representação do processo. A partir destes dados foi calculado o $t_{50\%} = 2,36$ minutos e $t_{85\%} = 6,99$ minutos. Para amostra comercial A o modelo de zero ordem apresentou valores de $r = 0,9973$ e o modelo de primeira ordem $r = 0,9238$, sendo escolhido o modelo de zero ordem a partir do qual foi calculado $t_{50\%} = 4,40$ minutos e $t_{85\%} = 8,63$ minutos; valores dentro dos recomendados para formas farmacêuticas de liberação imediata (BRASIL, 2003b; FERRAZ, 1998; PERES, 1998).

6.2.2.2. Cromatografia líquida de alta eficiência

6.2.2.2.1. Estudos preliminares

Na busca de um sistema que permitesse a total separação do dicloridrato de cetirizina e do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil]piperazina, com reprodutibilidade, foram testados mais de 20 sistemas empregando-se misturas de reagentes como metanol, acetonitrila, água, ácido fosfórico, ácido acético, hidróxido de potássio; hidróxido de sódio; soluções tampões em diferentes molaridades preparadas a partir de fosfato de potássio, fosfato de sódio, acetato de sódio e substâncias como trietilamina e hidróxido de tetrametil amônio (KOLLMORGEN et al., 1998; SWARTZ, 1998, WEN et al., 2001; BOUCHARD et al., 2001; EL WALILY, 1998; PAW et al., 2002; Yost et al., 1980).

Entre os sistemas testados foram apresentados 6 sistemas (Figuras 15 à 20), nos quais alguns deles apresentavam bons perfis mas baixa reprodução. A Figura 15 apresenta os primeiros cromatogramas que apresentaram distinção entre os dois picos porém sem total separação, com aumento do pH de 3,0 para 5,6 (Figura 16). Observou-se total separação dos picos, porém com altos desvios padrão relativo (7,0%) entre as diferentes injeções do padrões. Descartando-se diversas possibilidades deste tipo de variação foi testado um sistema no qual foi aumentada a concentração do tampão de 0,01 M para 0,05 M, obtendo-se (Figura 17) maior reprodutibilidade e desvio padrão relativo abaixo de 3,5, entretanto, com o aumento da concentração do tampão os picos voltaram a unir-se.

Na procura de um sistema que permitisse a total separação de ambas substâncias foi adicionado à fase móvel, que em sistemas anteriores só estava composta de acetonitrila e solução tampão, o solvente metanol, obtendo-se uma leve separação das substâncias como pode ser visto na Figura 18.

Realizando modificações nas proporções dos solventes (Figura 19) e diminuindo o pH de 3,0 para 2,5 (Figura 20), observou-se total separação das substâncias e desvios padrão relativo entre as injeções com valores menores que 1%. A Figura 20 apresenta o cromatograma do sistema que permitiu resolução de 2,7 entre o pico do (RS)-1-[(4-clorofenil) fenilmetil]piperazina (5,59) e do dicloridrato de cetirizina 6,64, levando-se em consideração que uma Rs de 1,5 representa separação até a linha base dos dois picos (YOST et al., 1980).

Empregando o sistema 6 foram calculados os limites de detecção (LD) e de quantificação (LQ) para as substâncias em estudo. Os dados são apresentados na Tabela 22 e a partir destes resultados foi calculado em 1,0mg/mL a concentração de dicloridrato de cetirizina que permite a detecção do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil]piperazina na matéria-prima.

Todos estes estudos preliminares foram realizados empregando-se cromatógrafo CG 480C. Já para a otimização do método foi empregado o cromatógrafo Shimadzu , ambos com especificações descritas no item 4.1.5.

Na otimização do método cromatográfico foram preparadas soluções de 1,0 mg/mL de dicloridrato de cetirizina padrão e amostra simulada e analisadas empregando o sistema 6. Observou-se que nestas concentrações na solução padrão de dicloridrato de cetirizina apareciam picos não identificados sobrepostos ao do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil]piperazina e outros que não estavam totalmente separados da base do pico do dicloridrato de cetirizina. Assim foram testados outros 3 sistemas variando nas proporções de acetonitrila e tampão e na vazão do sistema 6 sem modificar os outros parâmetros anteriormente estabelecidos.

O sistema composto por proporções de (metanol: acetonitrila: tampão fosfato de potássio (0,07M): ácido orto-fosfórico (18:10:72:0,5), apresentou separações entre cada um dos picos das substâncias identificadas e não identificadas com Rs maiores de 3,0; mas o tempo de análises ultrapassou 60 minutos, tempo realmente inviável quando se quer realizar determinações quantitativas de rotina.

O sistema escolhido foi o representado na Figura 21, que apesar de não ser um método seletivo para o (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil]piperazina, por apresentar $R_s = 1,2$ entre ele o pico próximo (substância relacionada), é um método seletivo para o dicloridrato de cetirizina e para o produto de degradação oxidativo, além de permitir a quantificação das substâncias relacionadas totais.

Na literatura não foram encontrados trabalhos que revelem a toxicidade do (RS)-1-[(4-clorofenil)fenilmetil]piperazina, de maneira que determinando-se as quantidades de substâncias relacionadas totais (máximo permitido 0,3%),

estaremos apresentando um método alternativo ao da Farmacopéia Européia 4^a ed. para determinação de impurezas totais, na matéria-prima e nas formulações acabadas do dicloridrato de cetirizina.

6.2.2.2.2. Curva de calibração

A Tabela 23 apresenta os valores das relações de áreas obtidas na determinação da curva de calibração pelo método cromatográfico e podem ser visualizadas na Figura 22. Os valores foram obtidos empregando concentrações entre 500,0 a 1500,0 µg/mL de dicloridrato de cetirizina. Estas relações apresentaram boa linearidade com coeficiente de correlação de 0.9998. As concentrações altas foram empregadas para permitir a visualização dos produtos de degradação.

6.2.2.2.3. Validação da metodologia por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para as amostras de comprimidos

A Figura 23 apresenta os resultados do estudo de interferentes. A solução placebo A não apresentou nenhum pico no cromatograma, podendo ser determinado o dicloridrato de cetirizina sem nenhuma interferência nas amostras de comprimidos.

Foram determinados os teores das amostras de comprimidos simulada e comerciais (A e B), observando-se precisão nos valores experimentais obtidos (Tabela 25 e 26) (BRITAIN, 1998; BRUCE et al., 1998; GREEM, 1996). Dentro deste estudo também foram determinadas as porcentagens de impurezas totais observando-se que nenhuma das amostras apresentou valores dentro dos limites estabelecidos (Tabela 25).

No teste de recuperação conforme procedimentos já descritos (AOAC, 1990), também foram obtidos valores dentro dos limites oficiais, dando evidência da exatidão do método cromatográfico.

6.2.2.3. Comparação estatística dos resultados obtidos pelos métodos de espectrofotometria derivada no ultravioleta (UVD) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para a determinação do dicloridrato de cetirizina.

Nos resultados obtidos na comparação da exatidão e precisão (Tabelas 29 e 30) dos dois métodos propostos (UVD e CLAE) para determinação de dicloridrato de cetirizina em comprimidos, pode-se observar que não existe diferença estatística significativa entre as médias e variâncias dos métodos para um nível de confiança de 95%.

6.2.3. Estudo de estabilidade acelerada

6.2.3.1. Substância de referência (dicloridrato de cetirizina)

Tal como indica a norma Q1A(R2) do ICH (ICH, 2003a) para substâncias de referência foi exposto o padrão de dicloridrato de cetirizina a “stress” hidrolítico e oxidativo. Mediante o método por cromatografia em camada delgada, o dicloridrato de cetirizina exposto a peróxido de hidrogênio apresentou manchas adicionais (Figura 24) como se apresenta no trabalho de MAKHIJA e colaboradores.

Também foram realizadas as análises destas soluções de dicloridrato de cetirizina, expostas às condições de estresse, pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) padronizado e validado nos itens 4.2.2.2.2. e 5.2.2.2.2. Observa-se (Figura 25) que os padrões expostos ao NaOH 1 M e o

HCL 1 M, não apresentaram picos adicionais, já o padrão exposto ao H₂O₂ apresentou diminuição no teor de dicloridrato de cetirizina em 65% e apresentou um pico adicional (Rs= 3,3) como é mostrado na Figura 25.

6.2.3.2. Amostra de xarope

Foram evidenciadas características físico – químicas como odor e cor na amostra de xarope. A Figura 26 apresenta as mudanças de cor no período de 90 dias na temperatura de 60°C. Antigamente pensava-se que estas mudanças na cor eram devidas a processos de caramelização da glicose pelo aumento da temperatura, estudos recentes tem mostrado que a formação da coloração marron no xarope se deve à formação de compostos amínicos provenientes da glucose (reação de Maillard), e que é uma característica que pode ser estudada e extrapolada a temperaturas ambientes, mediante aplicação da equação de Arrhenius (BOSTAN, 1997). Também foi observada na amostra simulada de xarope significativa diminuição nos valores de pH através do estudo de estabilidade.

A análise quantitativa da amostra de xarope foi realizada por meio do método por espectrofotometria derivada no ultravioleta padronizado e validado no item 4.2.2.1. e 5.2.1. Este método permitiu a avaliação da amostra submetida a temperatura de 50°C até o período de 60 dias e da amostra submetida a temperatura de 60°C até o período de 30 dias, visto que a coloração marron do xarope interferia na determinação do dicloridrato de cetirizina e por conseqüência modificava o perfil de absorção da solução. De maneira que esta é uma metodologia na qual a aplicação deve ser preferivelmente recomendada para determinações de rotina e em estudos de estabilidade até períodos de tempo nos quais a formulação não apresente colorações intensas.

A partir das porcentagens obtidas na determinação das amostras de xarope submetidas às temperaturas de 40 °C, 50 °C e 60 °C, foram aplicados modelos cinéticos de degradação, observando-se que o modelo cinético que melhor representava o processo era o modelo de zero ordem. A partir daí e empregando a equação de Arrhenius foram calculados os valores de constante de velocidade e energia de ativação para determinação do prazo de validade da formulação.

O tempo extrapolado para uma temperatura de 25°C é de 1,6 anos, e seguindo a norma ICH Q1E (ICH, 2003b), que indica que este período pode ser dobrado, o período de vida útil da formulação pode ser estipulado em 3,2 anos, tempo estimado para formulações de dicloridrato de cetirizina encontradas no comércio.

Devemos ressaltar que os valores de energia de ativação dos processos de degradação da amostra de xarope nas diferentes temperaturas, mantiveram-se entre valores de 2,0 a 5,0 kcal/mol, indicativo de que a diminuição do teor não é um processo dependente da temperatura. No entanto, para processos em solução nos quais a temperatura aumenta a reação, os valores de energia de ativação estão na faixa de 10,0 – 30,0 kcal/mol, podendo ser aplicada a equação de Arrhenius com maior certeza (LACHMAN et al., 1986; POPE, 1980). Ainda assim esta equação permitiu o cálculo de prazo de validade da formulação do xarope, o qual deverá ser comprovado através da aplicação de um estudo de estabilidade de longa duração. Se o estudo de estabilidade de longa duração fornecer resultados comparáveis, este poderia ser um método alternativo para determinação do prazo de validade de lotes posteriores, seguindo as condições anteriormente estabelecidas sem nenhum tipo de mudanças.

6.2.3.3. Amostra de comprimidos

A amostra simulada de comprimidos que originalmente apresentava cor branca homogênea e odor quase imperceptível, com o decorrer do tempo apresentou odor marcante e após 60 dias na condição de $50\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ com 90% de UR, já foram visualizadas pequenas manchas amarelas, as quais foram aumentando com o decorrer do tempo. Na Figura 28 podem ser observadas as mudanças anteriormente descritas.

Também foram determinadas as características de peso e dureza das amostras de comprimidos expostas as condições de $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ com 75% de UR, durante seis meses e $50\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ com 90% de UR durante 3 meses, observando-se pouca diminuição nos valores de peso médio calculado, mas aumento nos coeficientes de variação. No entanto, a dureza diminuiu significativamente com aumento alarmante nos desvios padrão relativo entre as amostras (Tabela 34). Estes dados indicam que as amostras estavam sendo possivelmente afetadas pela alta quantidade de umidade presente no meio.

Nas condições de $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e $50\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, nas quais não eram empregadas altas quantidades de umidade, as amostras apresentaram diminuição nos valores de peso médio. Este efeito pode dever-se à alta perda de umidade. A dureza diminuiu em proporções menores do que quando são aplicadas altas porcentagens de umidade. Chegou-se a conclusão de que este tipo de lâmina (alumínio/ poliuretano) não é o material mais adequado para o acondicionamento desta formulação, já que as amostras de comprimidos (acondicionadas nestes "*strips*") apresentaram-se altamente sensíveis quando expostas a diferentes condições ambientais.

O teste de dissolução desenvolvido no item 4.2.2.2.1.5. foi aplicado nas amostras submetidas às condições de $40\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ e $50\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$, podendo-se observar que se fosse aplicado o teste USP, em um único ponto, a amostra de

comprimidos submetida a temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o período de 90 dias teria passado no teste, pois a quantidade dissolvida em 30 minutos teria sido de 99,75%. Construindo-se os perfis de dissolução das amostras em cada um dos tempos, observou-se que no período de 90 dias, no tempo de 15 minutos, a quantidade dissolvida foi de 57,06 %. Na realidade é exigido para uma amostra de liberação imediata, no tempo de 15 minutos, que seja dissolvida 85%, da quantidade do princípio ativo presente. A Tabela 36 mostra estes resultados e na Figura 29 podemos observar como aumenta a variabilidade na dissolução dos comprimidos na medida que transcorre o tempo.

Foram aplicados modelos cinéticos a estes perfis para calcular a constante de velocidade de dissolução (K); $t_{50\%}$ e $t_{85\%}$. O estudo de regressão linear (Tabela 38) mostrou que o perfil de dissolução dos comprimidos, até o período de 60 dias, seguiu a cinética de primeira ordem e posteriormente, mudou para uma cinética de zero ordem. A Tabela 39 apresenta os resultados dos parâmetros cinéticos calculados, podendo-se observar que para os comprimidos submetidos à temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ no período de 90 dias, a dissolução de 85 % do fármaco só foi conseguida no tempo de 25,96 minutos. Na temperatura de $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ o $t_{85\%}$ está alterado para os comprimidos que permaneceram na estufa durante 60 dias.

Também foi calculada a eficiência de dissolução para cada um dos tempos (Tabela 40), observando-se sua diminuição no decorrer do estudo de estabilidade. O gráfico 33 ajuda à visualização destes resultados.

Mediante os testes físico-químicos de peso, dureza e dissolução podemos constatar que o “*strip*” (alumínio/ poliuretano) não é o melhor tipo de material para o acondicionamento dos comprimidos de dicloridrato de cetirizina, já que estes mostraram ser altamente sensíveis às condições ambientais o que foram expostos.

Na análise quantitativa do teor de dicloridrato de cetirizina nas amostras de comprimidos por meio dos métodos UVD e CLAE, observou-se que na condição de $40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ com 75 % de UR, durante seis meses, a perda do teor foi de 7,7% e na condição de $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ com 90 % de UR durante 3 meses, a perda do teor foi de 2,89% (Tabela 41).

Também foram determinadas as porcentagens de substâncias relacionadas e produtos de degradação oxidativos, observando-se que a porcentagem de impurezas totais nas amostras praticamente não aumentou (0,2%) e que não foram formados produtos de degradação oxidativos. Realmente os teores de substâncias relacionadas, tanto no padrão como nas amostras, foi muito acima do declarado pela Farmacopéia Européia 4 ed. (máximo 0,3%). Desta maneira, para invalidar estas amostras, seria necessário o desenvolvimento de testes que comprovem o grau de toxicidade destas substâncias provenientes dos processos de sínteses.

Tomando como referência estudos cinéticos já realizados (POPE, 1980), podemos dizer que mudando o material de acondicionamento para um material impermeável como um "strip" alumínio/ alumínio ou um "blister", os comprimidos de dicloridrato de cetirizina testados teriam uma alta probabilidade de serem estáveis por um período mínimo de dois anos. Claro que comparando-se os resultados deste estudo com o estudo de estabilidade da solução de xarope, e sabendo-se que a estabilidade de uma formulação na forma seca é muito maior, o período de vida útil da amostra de comprimidos estará acima dos 3 anos.

CONCLUSÕES

Pelos dados experimentais obtidos, pode-se concluir:

1. As metodologias desenvolvidas por espectrofotometria derivada no ultravioleta para a determinação das amostras de xarope e comprimidos demonstraram ser precisas, exatas e específicas para determinação do dicloridrato de cetirizina.
2. A metodologia por cromatografia líquida de alta eficiência demonstrou ser um método seletivo para determinação do dicloridrato de cetirizina e do produto de degradação oxidativo. Já para determinação de impurezas resultou ser um método específico, podendo ser denominado: método específico indicador de estabilidade.
3. O estudo de estabilidade acelerada realizado na amostra de xarope indicou que esta amostra tem uma alta probabilidade de ter um período de vida útil de 3,2 anos, estes resultados devem ser confirmados com estudos de longa duração.
4. Pelos estudos físico-químicos realizados na amostra de comprimidos sugere-se que devem ser empregados materiais impermeáveis como "*strip*" (alumínio/alumínio) ou "*blisters*".
5. Também foi constatada a importância de manter as amostras nas temperaturas de armazenamento estabelecidas desde a fabricação até sua chegada ao consumidor, visto que grandes oscilações nas temperaturas podem ocasionar modificações na forma farmacotécnica, sem ocasionar mudanças na integridade do princípio ativo, mas ainda assim, podendo invalidar a formulação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARGENTI, M. Problemas inherentes al estudio de la estabilidad del medicamento. **Safybi**, v.16, n.47, p.1080-1086, 1976.

ARIAS, I.; VILA, J.L. Estabilidad de las formas de dosificación de medicamentos. **Rev. Asoc. Esp. Farm. Hosp.**, Madrid, v.2, p.183-208, 1981.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists**. 15.ed. Arlington: AOAC, 1990. v.1, p.xvii.

AURORA PRADO, M. **Determinação de fármacos em formulações farmacêuticas empregando a electroforese capilar como alternativa a cromatografia líquida de alta eficiência**. São Paulo, 2002. 329p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.

BABE, K.S.; SEFARIN, W.E. Histamine, bradykinin, and their antagonists. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; MOLINOFF, P.B.; RUDDON, R.W.; GILMAN, A.G., eds. **Goodman & Gilman's the pharmacological basis of therapeutics**. 9.ed. New York: McGraw-Hill, 1996. p.581-593.

BAKSHI, M.; SINGH, S. Development of validated stability-indicating assay methods - critical review. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.28, p.1011-1040, 2002.

As referências bibliográficas estão de acordo com a norma NBR6023/2000 preconizada pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), e as abreviaturas dos títulos dos periódicos seguem o Chemical Abstracts Service Source Index (CASSI) 2002.

- BALTES, E.; COUPEZ, R.; BROUWERS L.; GOBERT, J. Gas chromatographic method for the determination of cetirizine in plasma. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.430, n.1, p.149-155, 1988.
- BALTES, E.; DE LENNOY, J.; RODRIGUEZ, L. [4-(Diophenylmethyl)- 1 - piperazinyl] acetic acids and their amides and pharmaceutical compositions. EP Pat. 58146, 1982. 30p. *apud Chem. Abstr.*, Columbus, v.98, abstr. 34599, 1983.
- BANAKAR, U. **Pharmaceutical dissolution testing**. New York: Marcel Dekker, 1992. 437p.
- BENETON, S.A. **Análise do salbutamol em medicamentos por espectrofotometria derivada**. São Paulo, 1990. 86p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo.
- BOSCH, C.O.; SANCHEZ, F.R.; CANO, J.M.P. Recent developments in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry. **Talanta**, Amsterdam, v.42, p.1195-1214, 1995.
- BOSTAN, A.; BOYACIOGLU D. Kinetics of non-enzymatic colour development in glucose syrups during storage. **Food Chemistry**, Great Britain, v.60, n. 4, p. 581 – 585, 1997.
- BOUCHARD, G.; PAGLIARA, A.; BALEN, G.P.; CARRUPT, P.; TESTA, B.; GOBRY, V.; GIRAULT, H.; CARON, G.; ERMONDI, G.; FRUTTERO, R. Ionic Partition Diagram of the zwitterionic antihistamine cetirizine. **Helv. Chim. Acta**, vol. 84, p.375-387, 2001.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resolução. Guia para a realização de estudos de estabilidade.

- Res. Nº485, p.1-4, 2002. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/especifica.htm>. Acesso em: 20 out. 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Medicamentos. Legislação. Resolução. Guia para validação de métodos analíticos. Res. nº 899, p.1-10, 2003a. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/especifica.htm>. Acesso em: 20 abr. 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resolução. Guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (FFSOLI). Res. Nº 901, p.1-7, 2003b. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/especifica.htm>. Acesso em: 20 out. 2003.
- BRENEMAN, D.L. Cetirizine versus hydroxyzine and placebo in chronic idiopathic urticaria. **Ann. Pharmacother.**, Cincinnati, v.30, p.1075-1079, 1996.
- BRIK, A.; TASHKIN, D.P.; GONG, H.; DAUPHINEE, B.; LEE, E. Effect of cetirizine, a new histamine H₁ antagonist, on airway dynamics and responsiveness to inhaled histamine in mild asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, Saint Louis, v.80, n.1, p.51-56, 1987.
- BRITTAIN, H.G. Validação de métodos analíticos não cromatográficos. **Pharm. Technol., Ed. Bras.**, São Paulo, v.2, n.3, p.4-28, 1998.

- BRUCE, P.; MINKKINEN, P.; RIEKKOLA, M.-L. Practical method validation: validation sufficient for an analysis method. **Mikrochim. Acta**, Wien, v.128, p.93-106, 1998.
- CARDOZA, R.M.; AMIN, P.D. A stability indicating LC method for felodipine. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.27, p.711-718, 2002.
- CARSTENSEN, J.T. Stability of solids and solid dosage forms. **J. Pharm. Sci.**, New York, v.63, n.1, p.1-14, 1974.
- CARSTENSEN, J.T. **Advanced pharmaceuticals solids**. New York: Marcel Dekker, 2001. p. 129-130.
- CHOI, S.O.; LEE, S.H.; KONG, H.S.; KIM, E.J.; CHOO, H.P. Stereoselective determination of cetirizine and studies on pharmacokinetics in rat plasma. **J. Chromatogr. B**, Amsterdam, v.744, p.201-206, 2000.
- CHOO, H.P.; CHOI, S.O.; LEE, S.H. Comparison of the antihistaminic activity between cetirizine enantiomers. **J. Appl. Pharmacol.**, Seoul, v.9, p.282-284, 2001.
- CHORNY, M.; LEVY, D.; SCHUMACHER, I.; LICHA, C.; GRUZMAN, B.; LIVSHITS, O.; LOMNICKY, Y. Development and validation of a stability-indicating high performance liquid chromatography assay for benoxinate. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.32, p.189-196, 2003.
- CHRISTOPHE, B.; CARLIER, B.; GILLARD, M.; CHATELAIN, P.; PECK, M.; MASSINGHAM, R. Histamine H₁ receptor antagonism by cetirizine in isolated guinea pig tissues: influence of receptor reserve and dissociation kinetics. **Europ. J. Pharm.** V.470, p. 87-94, 2003.

- CONDINO, N.A.; MUSCARA, M.N.; BOZZA, P.T.; CASTRO, F.N.; DENUCCI, G. Effect of a 1 week administration of cetirizine on the chemotaxis and superoxide anion production of neutrophils from healthy volunteers. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.**, Muenchen-Deisenhofen, v.34, n.3, p.96-100, 1996.
- COREY, E.J.; HELAL, C.J. Catalytic enantioselective synthesis of the second generation histamine antagonist cetirizina hydrochloride. **Tetrahedron Lett.**, Amsterdam, v.37, n.28, p.4837-4840, 1996.
- CURRIE, L.A. Detection and quantification limits: origins and historical overview. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, v.391, p.127-134, 1999.
- DAVIS, R.B.; THOMPSON, J.E.; PARDUE H.L. Characteristics of statistical parameters used to interpret least-squares results. **Clin. Chem.**, Columbus, v.24, n.4, p.611-621, 1978.
- DAY, R.A.; UNDERWOOD, A.L. **Química analítica cuantitativa: espectrofotometria**. 5.ed. Mexico: Prentice Hall Hispanoamericana, 1989. p.466-468.
- DEF 2003/2004: dicionário de especialidades farmacêuticas. 28.ed. Rio de Janeiro: EPUC, 2003. p. 100, 348.
- DE JAGER, A.D.; HUNDT, H.K.L.; SWART, K.J.; HUNDT, A. F.; ELS, J. Extractionless and sensitive method for high – throughput quantitation of cetirizine in human plasma samples by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **J. Chromatogr. B**, Amsterdam, v.773, p.113 - 118, 2002.
- DERENDORF, H.; HOCHHAUS, G. **Handbook of pharmacokinetic/pharmacodynamic correlation**. Boca Raton: CRC Press, 1995. p.282-283. (Handbooks of pharmacology and toxicology).

- GARG, A.; BADWE, N.; KAUL, P.; SETHI, P.D. Estimation of cetirizine dihydrochloride in syrups. **Indian Drugs**, Mumbai, v.32, n.8, p.409-410, 1995.
- GAZY A.A.; MAHGOUB, H.; EL-YASBI, F.A.; EL-SAYED, M.A.; YOUSSEF, M. Determination of some histamine H₁ receptor antagonists in dosage forms. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.30, p.859-867, 2002.
- GENGO, F.M.; DABRONZO, J.; YURCHAK, A.; LOVE, S.; MILLER, K. The relative antihistaminic and psychomotor effects of hydroxyzine and cetirizine. **Clin. Pharmacol. Ther.**, Saint Louis, v.42, n.1, p.265-272, 1987a.
- GENGO, F.M.; GABOS, C. Antihistamines, drowsiness and psychomotor impairment: central nervous system effect of cetirizine. **Ann. Allergy**, McLean, v.59, n.6, p.53-57, 1987b.
- GIL-ALEGRE, M.E.; BERNABEU, J.A.; CAMACHO, M.A.; TORRES-SUAREZ, A.I. Statistical evaluation for stability studies under stress storage conditions. **Farmaco**, Amsterdam, v.56, p.877-883, 2001.
- GONÇALVES, M.L.S.S. **Métodos instrumentais para análise de soluções: análise quantitativa**: espectrofotometria no visível e ultravioleta; erros em química analítica. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1983. p.13-82, 609-640.
- GONÇALVES, M.I.A.; HARAGUCHI, T. Doseamento da cetirizina por espectrofotometria no infravermelho. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM OF LATIN AMERICAN AND CARIBBEAN SECTION AOAC INTERNATIONAL, 1, São Paulo, 1995. **Abstracts**. São Paulo: AOAC, 1995.
-

- GOWDA, B.G.; MELWANKI, M.B.; SEETHARAMAPPA, J. Extractive spectrophotometric determination of cetirizine hydrochloride in pharmaceutical preparations. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.25, p.1021-1026, 2001.
- GREEM, J.M. A practical guide to analytical method validation. **Anal. Chem.**, Columbus, v.68, n.9, p.305A-309A, 1996.
- GRIFFITHS, T.R.; KING, K.; HUBBARD, H.V. Some aspects of the scope and limitations of derivative spectroscopy. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, v.143, p.163-176, 1982.
- GRIMM, W. Storage conditions for stability testing. **Drugs Made Ger.**, Aulendorf, v.28, p.196-202, 1985.
- GROB, J.J.; CASTELAIN, M.; RICAHRD, M.A.; BONIOL, J.P.; BERAUD, V.; ADHOUTE, H.; GUILLOU, N.; BONERANDI, J.J. Antiinflammatory properties of cetirizine in a human contact dermatitis model. **Acta Derm. Venereol.**, Basingstoke, v.78, n.3, p.194-197, 1998.
- HACKMANN, E.R.M. Testes de estabilidade na indústria farmacêutica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PRODUTOS FARMACÊUTICOS, COSMÉTICOS E AFINS, 2, São Paulo, 1989. **Anais**. São Paulo, 1989. p.1-65.
- HACKMANN, E.R.M.; BENETON, S.A.; SANTORO, M.I.R.M. Espectrofotometria derivada na análise de fármacos em medicamentos. **Rev. Port. Farm.**, Lisboa, v.41, n.1, p.7-13, 1991.

HARTMAN, V.; KRUMMEN, K.; SCHNABEL, G.; BETHKE, H. Techniques of stability testing and shelf-life predictions. **Pharm. Ind.**, Aulendorf, v.44, n.1, p.71-79, 1982.

HAYE, R.; AANESEN, J.P.; BURTIN, B.; DONNELLY, F.; DUBY, C. The effect of cetirizine on symptoms and signs of nasal polyposis. **J. Laryngol. Otol.**, Ashford, v.112, n.11, p.1042-1046, 1998.

HENZ, B.M.; METZENAUER, P.; O'KEEFE, E.; ZUBERBIER, T. Differential effects of new-generation H₁-receptor antagonists in pruritic dermatoses. **Allergy**, Copenhagen, v.53, n.2, p.180-183, 1998.

HILL, S.A.; KHAN, K.A. Protocols for stability testing. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.8, p.73-80, 1981.

HORAK, F.; TOTH, J.; MARKS, B.; STUBNER, U.P.; BERGER, U.E.; JAGER, S.; BURTIN, B.; DUBY, C. Efficacy and safety relative to placebo of an oral formulation of cetirizine and sustained-release pseudoephedrine in the management of nasal congestion. **Allergy**, Copenhagen, v.53, n.9, p.849-856, 1998.

ICH Q2a. Text on validation of analytical procedure. Disponível em: <http://www.ich.org>. Acesso em: 6 nov. 1996.

ICH Q2b. Text on validation of analytical procedure: methodology. Disponível em: <http://www.ich.org>. Acesso em: 27 oct. 1994a.

ICH Q1A. Text on Stability Testing of New Drug-Substances and Products. Disponível em: <http://www.ich.org>. Acesso em: 23 set. 1994b.

ICH QIA(R2). Text on Stability Testing of New Drug-Substances and Products. Disponível em: <http://www.ich.org>. Acesso em: 6 fev. 2003a.

ICH QIE. Text on Evaluation For Stability Data. Disponível em: <http://www.ich.org>. Acesso em: 6 fev. 2003b.

ICH QIF. Text on Stability Data Package For Registration Applications in Climatic Zones III and IV. Disponível em: <http://www.ich.org>. Acesso em: 6 fev. 2003c.

INMAN, E.L.; RICKARD, E.C. Chromatographic detection limits in pharmaceutical method development. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.447, p.1-12, 1988.

JOLLES, S.; HILL, H. Management of aseptic meningitis secondary to intravenous immunoglobulin. **Br. Med. J.**, London, v.316, p.936, 1998.

JUHLIN, L.; VOS, C.; RIHOUX, J. Inhibiting effect of cetirizine on histamine-induced and 48/80-induced wheals and flares, experimental dermographism, and cold-induced urticaria. **J. Allergy Clin. Immunol.**, Saint Louis, v.80, n.4, p.599-602, 1987.

KANTAR, A. Cetirizine attenuates the priming capacity on neutrophils of lacrimal fluid obtained after allergen induced conjunctivitis. **Allergy**, Copenhagen, v.53, n.43, p.76, 1998.

KANUMULA, G.V.; RAMAN, B.; SUNDERESAN, M. Concurrent analysis of a multicomponent dosage formulation containing phenylpropanolamine hydrochloride, cetirizina dihydrochloride and acetaminophen by reverse-phase (RP) HPLC with wavelength programming. **Indian Drugs**, Mumbai, v.38, n.6, p.294-298, 2001.

- KATZUNG, B.G. **Farmacología básica y clínica**. 5.ed. Santafé de Bogota: El Manual Moderno, 1994. p.285-295.
- KAZUE-KANO, E. Avaliação biofarmacêutica de formulações contendo cefadroxil: estudos in vitro e in vivo (bioequivalência). São Paulo, 2002. 200p. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP).
- KOLLMORGEN, D.; KRAUT, B. Determination of methylparaben and chlorpromazine in chlorpromazine hydrochloride oral solution by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr., B: Biomed. Sci. Appl.**, Amsterdam, v.707, p.181-187, 1998.
- KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J.H. **Química farmacêutica**. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1982. p.346-361.
- LACHMAN, L., LIEBERMAN, H.A., KANIG, J.L., eds. **The theory and practice of industrial pharmacy**. 3 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1986.
- LANZ, M.J.; LIU, A.H.; BUCHMEIER, A.D.; NELSON, H.S. Nasal nitric oxide decreases in children with grass pollen allergy with oral cetirizine syrup. **J. Allergy Clin. Immunol.**, Saint Louis, v.101, n.1, p.1013, 1998.
- LEVILLAIN, P.; FOMPEYDIE, D. Spectrophotométrie dérivée: intérêt, limites et applications. **Analisis**, Paris, v.14, n.1, p.1-20, 1989.
- LONG, G.; WINEFORDNER, J.D. Limit of detection, a closer look at the IUPAC definition. **Anal. Chem.**, Columbus, v.55, n.7, p.712-724, 1983.

- LOPEZ, O.M.; LOPEZ, M.J.P.; MARTÍNEZ M.L. Métodos estadísticos en la evaluación de los ensayos acelerados de estabilidad. **C.I.F.**, La Laguna, v.4, n.2, p.352-356, 1985.
- MACEK, J.; PTACEK, P.; KLÍMA J. Determination of cetirizine in human plasma by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr. B**, Amsterdam, v.736, p. 231-235, 1999.
- MADDOX, D.E.; REED, C.E. Clinical pharmacodynamics of antihistamines. **Ann. Allergy**, McLean, v.59, n.6, p.43-48, 1987.
- MAHGOUB, H.; GAZY, A.A.; EL-YASBI, F.A.; EL-SAYED, M.A.; YOUSSEF, M. Spectrophotometric determination of binary mixtures of pseudoephedrine with some histamine H₁-receptor antagonists using derivative ratio spectrum method. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.31, p.801-809, 2003.
- MAKHIJA, S.N.; VAVIA, P.R. Stability indicating HPTLC method for the simultaneous determination of pseudoephedrine and cetirizine in pharmaceutical formulations. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.25, p.663-667, 2001.
- MAKHIJA, S.N.; VAVIA, P.R. Stability indicating LC method for the estimation of venlafaxine in pharmaceutical formulations. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.28, p.1055-1059, 2002.
- MARTIN, A. Kinetics. In: _____. **Physical pharmacy**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.281-323.
- MARTINDALE: the extra pharmacopeia. 30.ed. London: Pharmaceutical Press, 1993. p.928, 933.
-

MATZKE, G.R.; YEH, J.; AWNI, W.M.; HALSTENSON, C.E.; CHUNG, M. Pharmacokinetics of cetirizine in the elderly patients with renal insufficiency. **Ann. Allergy**, McLean, v.59, n.6, pt.2, p.25-30, 1987.

McWILLIAM, I.C. Derivative spectroscopy and its application to the analysis of unresolved bands. **Anal. Chem.**, Columbus, v.41, n.4, p.674-676, 1969.

MEALY, N.E.; LEESON, P.A. Cetirizine hydrochloride. **Drugs Future**, Barcelona, v.12, n.7, p.624-627, 1987.

MELWANKI, M.B.; SEETHARAMAPPA, J.; GOWDA, B.G.; SAJJAN, A.G. Spectrofluorimetric determination of cetirizine hydrochloride in pharmaceutical preparations. **Chem. Anal.**, Warsaw, v.46, n.6., p.883-887, 2001.

MERCK Index. 12.ed. Whitehouse Station, 1996. p.2067,4900.

MERCOSUL: legislação para indústria farmacêutica. São Paulo: SINDUSFARMA, 2000. p.141-149.

MILLER, J.C.; MILLER, J.N. **Estadística para química analítica**. 2.ed. Delaware: Adison-Wesley Iberoamericana, 1993. p.40-63.

MOFFAT, A.C.; JACKSON, J.V.; MOSS, M.S.; WIDDOP, B.; CLARKE, E.C.G., eds. **Clarke's isolation and identification of drugs**. 2.ed. London: Pharmaceutical Press, 1986. p.673, 762, 938.

MOLLICA, J.A.; AHUJA, S.; COHEN, J. Stability of pharmaceuticals. **J. Pharm. Sci.**, New York, v.67, n.4, p.443-465, 1978.

- MONCRIEF, J. Determination of cetirizine in serum using reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet spectrophotometric detection. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.583, p.128-130, 1992.
- MORETTO, L.D. A estabilidade de fármacos e medicamentos. **Pharm. Technol., Ed. Bras.**, v.3, n.4, p.46-48, 1999.
- MUSCARA, M.N., DE-NUCCI, G. Comparative bioavailability doses of tablet formulations of cetirizine dihydrochloride in healthy male volunteers. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.**, Deisenhofen, v.33, n.1, p.27-31, 1995.
- MUTHE, A.V.; KELKAR, M.R. Stability of pharmaceuticals: an overview. **East. Pharm.**, New Delhi, p.43-44. september, 1987.
- NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 4.ed. New York: John Wiley, 1986. p.231-233.
- NICHOLSON, A.N.; TURNER, C. Central effects of the H1-antihistamine, cetirizine. **Aviat, Space Environ. Med.**, Alexandria, v.69, n.2, p.166-171, 1998.
- O'HAVER, T.C.; GREEN, G.L. Numerical error analysis of derivative spectrometry for the quantitative analysis of mixtures. **Anal. Chem.**, Columbus, v.48, n.2, p.312-318, 1976.
- PARIENTE-KHAYAT, A.; REY, E.; DUBOIS, M.C.; VAUZELLE KERVROEDAN, F.; PONS, G. Pharmacokinetics of cetirizine in 2 and 6 year old children. **Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.**, Muenchen-Deisenhofen, v.33, n.6, p.340-344, 1995.

- PARTHASARADHI REDDY, B.; SURYANARAYANA, M.V.; VENKATRAMAN, S.; SATYANARAYANA REDDY, M.; KRUPADANAM, D.G.L.; SASTRY, C.S. UV spectrophotometric determination of cetirizine dihydrochloride in dosage forms. **Indian Drugs**, Mumbai, v.30, n.6, p.286-287, 1993.
- PAW, B.; MISTZAL, G.; HOPKALA H.; DROZD, J. Development and validation of a HPLC method for the determination of cetirizine in pharmaceutical dosage forms. **Pharmazie**, Eschborn, v. 57, p. 313-315, 2002.
- PERES DEL COMUNE, A. **Desenvolvimento e avaliação de comprimidos de liberação convencional contendo piroxicam**. São Paulo, 1998. 177p. Dissertação de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- POPE, D.G. Accelerated stability testing for prediction of drug product stability. **Drug Cosmet. Ind.**, Cleveland, v.127, n.6, p.48-66, 1980.
- RAMIREZ-BELTRAN, N.D.; OLIVARES, L. Statistical analysis of drug stability. **Comput. Ind. Eng.**, New York, v.37, p.351-354, 1999.
- RICHARDS, D.M.C.; BUCKLEY, M.M.T.; FITTON, A. Cetirizine a review of its pharmacological properties and clinical potential in allergic rhinitis, pollen-induced asthma, and chronic urticaria. **Drugs**, Auckland, v.40, n.5, p.761-781, 1990.
- ROSSEEL, M.T.; LEFFEBVRE, R.A. Determination of cetirizine in human urine by high-performance liquid chromatography. **J. Chromatogr.**, Amsterdam, v.565, p.504-509, 1991.
- RUDAZ, S.; SOUVERAIN, S.; SCHELLING, C.; DELEERS, M.; KLOMP, A.; NORRIS, A.; VU, T.L.; ARIANO, B.; VEUTHEY, J.L. Development and

- validation of a heart-cutting liquid chromatography-mass spectrometry method for the determination of process-related substances in cetirizine tablets. **Anal. Chim. Acta**, Amsterdam, v.492, n.1/2, p.271-282, 2003.
- SANCHEZ, R.F.; BOSCH, O.; CANO, P.J.M. Derivative ultraviolet visible region absorption spectrophotometry and its analytical applications. **Talanta**, Amsterdam, v.35, n.10, p.753-761, 1988.
- SAVITZKY, A.; GOLAY, M.J.E. Smoothing and differentiation of data by simplified least squares procedures. **Anal. Chem.**, Columbus, v.36, n.8, p.1627-1639, 1964.
- SERRA, C. **Avaliação biofarmacotécnica de comprimidos contendo cefalexina: cinética de dissolução e bioequivalente**. São Paulo, 1998. 206 p. Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – Universidade de São Paulo.
- SILVA, P., ed. **Farmacologia**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p.550-554.
- SILVERSTEIN, R.M.; BASSUR, G.C.; MOKKIL, T.C. **Identificação espectrofotométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. p.85-120.
- SIMONS, F. E. R. Comparative pharmacology of H₁ antihistamines: clinical relevance. **The American Journal of medicine**. V.113 (9A), p. 38 – 46, 2002.
- SKOUG, J.W.; HALSTEAD, G.W.; THEIS, D.L.; FREEMAN, J.E.; FAGAM, D.T.; ROHRS, B.R. Roteiro para desenvolvimento e validação do teste de

dissolução em formas farmacêuticas sólidas para uso oral. **Pharm. Technol., Ed. Bras.**, v.1, n.1, p.34-43, 1997.

SNEADER, W. **Drug discovery**: the evolution of modern medicines. New York: John Wiley, 1985. p.165-174.

SPENCER, M.; FAULDS, D.; PETERS, D.H. Cetirizine reappraisal of its pharmacological properties and therapeutic use in selected allergic disorders. **Drugs**, Auckland, v.46, n.6, p.1055-1080, 1993.

SPICAK, V.; DAB, I.; HULHOVEN, R.; DESAGER, J.P.; HARVENGT, C. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cetirizine in infants and toddlers. **Clin. Pharmacol. Ther.**, Saint Louis, v.61, n.3, p.325-330, 1997.

STEPPE, M. Estudo da estabilidade térmica de suspensões de orais de cefalexina. São Paulo, 2000. 218p. (Tese de Doutorado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP).

SURYANARAYANA, M.V.; REDDY, B.P.; KRUPADANAM, G.L.; VENKATRAMAN, S.; SASTRY, C.S. HPLC determination of cetirizine dihydrochloride. **Indian Drugs**, Mambai, v.29, n.13, p.605-607, 1992.

SWARTZ, M.E.; KRULL, I.S. Validação de métodos cromatográficos. **Pharm. Technol.**, Eugene, v.2, n.3, p.12-20, 1998.

TAYMES, I. Desenvolvimento de metodologia para a determinação de cetirizina em preparações farmacêuticas. São Paulo, 2001. 107p. (Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP).

UNITED STATES Pharmacopeia: USP25: National Formulary NF20. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2002. p.31-34, 310-311.

- USP DI. 15.ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1995. p.31-34, 310-311. [Drug Information for the Health Care Professional, v.1].
- VADAS, E.B. Stability of pharmaceutical products. In: GENNARO, A.R., ed. **Remington: the science and practice of pharmacy**. 19.ed. Easton: Mack, 1995. p.639-647.
- VERSTER, J.C.; VOLKERTS, E.R.; OOSTERWIJCK, A.W.A.A.; AARAB, M.; BIJTJES, S.I.R.; DE WEERT, A.M.; EIJKEN, E.J.E.; VERBATEN, M.N. Acute and subchronic effects of levocetirizina and diphenhydramine on memory functioning, psychomotor performance, and mood. **J. Allerg. Clin Immunol.**, v.111, n.3. p. 623 – 627, 2003.
- VOIGT, R. **Tratado de tecnologia farmacêutica**. Zaragoza: Acribia, 1982. p. 2085-2121.
- WARNER, J.O. A double-blinded, randomized, placebo-controlled trial of cetirizine in preventing the onset of asthma in children with atopic dermatitis: 18 months' treatment and 18 months' posttreatment follow-up. **J. Allerg. Clin Immunol.**, v. 108, n. 6. p. 929 – 937, 2001.
- WASSERMAN, S.I.; BROIDE, D.H.; MARQUARDT, D.L. Cetirizine therapy for seasonal allergic rhinitis: alternative dosage schedules. **Clin. Ther.**, Belle Mead, v.13, n.6, p.707-713, 1991.
- WEISMAN, A.; KUSELMAN, I. Distribution of results of cetirizine dihydrochloride assay in bulk material. **Int. J. Pharm.**, Amsterdam, v.221, p.159-163, 2001.
- WEN, J.W.; FENG, M.X.; ZENG, F. Determination of the content and dissolution of cetirizina hydrochloride in capsules by HPLC. **Yaowu Fenxi Zazhi**, v.21,

n.3, p.164-166, 2001. apud **Anal. Abstr.** Disponível em: <http://www.portaldapesquisa.com.br/databases/sites?action=bases&area=exatas>. Acesso em: 20 set. 2003.

WOLFGANG, G. Extension of the international conference on harmonization tripartite guideline for stability testing of new drug substances and products to countries of climatic zones III and IV. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, Monticello, v.24, n.4, p.313-325, 1998.

WOOD, S.G.; JOHN, B.A.; CHASSEAUD, L.F.; YEH, J.; CHUNG, M. The metabolism and pharmacokinetics of ¹⁴C-cetirizine in humans. **Ann. Allergy**, McLean, v.59, n.6, pt.2, p.31-34, 1987.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines on stability testing of pharmaceutical products containing well-established drug substances in conventional dosage forms**. Geneva, 2001,1-13.

YOST, R.W.; ETRRE, L.S.; CONLON, R.D. **Introducción a la cromatografía líquida práctica**. Norwalk: Perkin – Elmer Corp. , 1980, p. 33-49.

ZAATER, M.F.; TAHBOUB, Y.R.; NAJIB, N.M. RP- LC method for the determination of cetirizine in serum. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, Amsterdam, v.22, p.739 - 744, 2000.

ZANINI, A.C.; OGA, S. **Farmacologia aplicada**. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1989. p.491-497.

ZANINI, A.C.; OGA, S. **Guia de medicamentos**. São Paulo: Atheneu, 1995. p.160.