

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**FACULDADE DE FARMÁCIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Bárbara Leão Agata

**ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO  
INDICATIVO DE ESTABILIDADE PARA DETERMINAÇÃO DE NAPROXENO  
SÓDICO**

Belo Horizonte - MG  
2022

Bárbara Leão Agata

**ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO  
INDICATIVO DE ESTABILIDADE PARA DETERMINAÇÃO DE NAPROXENO  
SÓDICO**

Dissertação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestra em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Christian Fernandes – UFMG

Coorientador: Prof. Dr. José Eduardo Gonçalves – UFMG

Belo Horizonte - MG  
2022

A263e Agata, Bárbara Leão.  
Estudo de degradação forçada e desenvolvimento de método indicativo de estabilidade para determinação de naproxeno sódico [recurso eletrônico] / Bárbara Leão Agata. – 2022.  
1 recurso eletrônico (120 f. : il.) : pdf.

Orientador: Christian Fernandes.  
Coorientador: José Eduardo Gonçalves.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências de Farmacêuticas.

Exigências do sistema: Adobe Acrobat Reader

1. Medicamentos – Degradação – Teses. 2. Estabilidade – Teses. 3. Anti-inflamatórios não esteroides – Teses. 4. Naproxeno – Teses. 5. Análise térmica – Teses. I. Fernandes, Christian. II. Gonçalves, José Eduardo. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. IV. Título.

CDD:615.4



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DA BÁRBARA LEÃO AGATA**

Realizou-se, no dia 14 de dezembro de 2022, às 09:00 horas, em formato remoto, a 377ª defesa de dissertação, intitulada *ESTUDO DE DEGRADAÇÃO FORÇADA E DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO INDICATIVO DE ESTABILIDADE PARA DETERMINAÇÃO DE NAPROXENO SÓDICO*, apresentada por BÁRBARA LEÃO AGATA, número de registro 2020717721, graduada no curso de FARMÁCIA, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestra em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, à seguinte Comissão Examinadora: Prof(a). Christian Fernandes - Orientador (UFMG), Prof(a). José Eduardo Gonçalves (FAFAR-UFMG), Prof(a). Guilherme Diniz Tavares (UFJF), Dr(a). Juliana Machado Brêtas (UFMG).

A Comissão considerou a dissertação:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrei a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos membros da Comissão.  
Belo Horizonte, 14 de dezembro de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Jose Eduardo Goncalves, Professor do Magistério Superior**, em 14/12/2022, às 12:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Christian Fernandes, Professor do Magistério Superior**, em 14/12/2022, às 12:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Juliana Machado Bretas, Farmacêutica-Habilitação**, em 14/12/2022, às 12:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



Documento assinado eletronicamente por **Guilherme Diniz Tavares, Usuário Externo**, em 14/12/2022, às 13:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1956873** e o código CRC **29DC72B7**.

## **AGRADECIMENTOS**

Aos professores Christian Fernandes e José Eduardo Gonçalves que me proporcionaram a oportunidade de realizar esse trabalho. Por toda dedicação e apoio nessa etapa do meu crescimento pessoal e profissional.

À minha mãe, Maria Ofélia, grande incentivadora dos meus sonhos e dos meus estudos.

A toda a minha família, pelo amor e apoio incondicional.

À banca examinadora, por terem aceitado o convite e terem contribuído ainda mais para a melhoria desse trabalho.

Aos meus amigos do Globo e da Ease Labs por todo o suporte e apoio em todos os momentos.

## RESUMO

Para a garantia do sucesso farmacoterapêutico, todo medicamento precisa apresentar eficácia, segurança e qualidade. Além disso, essas características são necessárias para o registro sanitário dos produtos farmacêuticos. A estabilidade é um importante fator para a garantia dessa tríade. A falta de estabilidade pode estar relacionada à perda do efeito terapêutico ou à exposição do consumidor aos produtos de degradação, que podem ter efeitos tóxicos para o organismo. Nesse contexto, é necessário dispor de métodos capazes de detectar e quantificar possíveis mudanças na formulação. Tais métodos são chamados de indicativos de estabilidade e devem ser seletivos para o fármaco em análise e permitir sua quantificação e identificação, bem como dos seus produtos de degradação. Dentre os fármacos mais utilizados em todo o mundo estão os anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), que possuem efeitos analgésicos e anti-inflamatórios. O naproxeno sódico (NAP Na<sup>+</sup>) é um AINE comumente utilizado. Diante desse contexto, realizou-se estudo de degradação forçada do insumo farmacêutico ativo NAP Na<sup>+</sup> e dos comprimidos contendo este fármaco. Foi desenvolvido e validado método indicativo de estabilidade utilizando cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a detector de arranjo de diodos, onde foi empregada coluna C18 (50 x 2,1 mm; 1,7 µm). Além disso, realizaram-se análises térmicas (calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria) para avaliação da compatibilidade entre o insumo farmacêutico ativo e os excipientes da formulação. O método cromatográfico foi seletivo para o NAP Na<sup>+</sup> e seus produtos de degradação. No estudo de degradação forçada, o fármaco apresentou-se estável em condições brandas de degradação, mas suscetível à degradação quando exposto a condições drásticas em meio ácido e alcalino. Foram observadas interações de baixa intensidade entre o NAP Na<sup>+</sup> e a lactose e a polivinilpirrolidona. Como conclusão, pode-se afirmar que o método indicativo de estabilidade desenvolvido e validado poderá ser utilizado em estudos de estabilidade e no controle de qualidade do medicamento proposto contendo NAP Na<sup>+</sup>, garantindo sua eficácia, segurança e qualidade.

Palavras-chave: estudo de degradação forçada; estabilidade; anti-inflamatório não esteroidal; naproxeno; método indicativo de estabilidade; análise térmica.

## ABSTRACT

In order to guarantee pharmacotherapeutic success, every drug must present efficacy, safety and quality. In addition, these characteristics are necessary for the sanitary registration of the pharmaceutical products. Stability is an important factor to ensure this triad. The lack of stability may be related to the loss of the therapeutic effect or the exposure of consumers to degradation products, which can have toxic effects. In this context, methods capable of detecting and quantifying possible changes in the formulation are required. Such stability indicating methods must be selective for the drug under analysis and allow its quantification and identification as well as its degradation products. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), which have analgesic and anti-inflammatory effects, are among the most used drugs worldwide. Naproxen sodium (NAP Na<sup>+</sup>) is a commonly used NSAID. In this context, a forced degradation study of the active pharmaceutical ingredient NAP Na<sup>+</sup> and the tablets containing this drug was carried out. A stability indicating method was developed and validated using ultra high performance liquid chromatography coupled to a diode array detector in a C18 (50 x 2.1 mm; 1.7 μm) column. In addition, thermal analyzes (differential scanning calorimetry and thermogravimetry) were performed to analyze the compatibility between the active pharmaceutical ingredient and the excipients of the formulation. The chromatographic method was selective for NAP and its degradation products. In the forced degradation study, the drug was stable under mild degradation conditions, but was susceptible to degradation when exposed to drastic conditions in acid and alkaline medium. Low-intensity interactions were observed between NAP Na<sup>+</sup> with lactose and polyvinylpyrrolidone. As a conclusion, it can be stated that the stability indicating method developed and validated can be used in stability and quality control studies, assuring the efficacy, safety and quality of the drug.

Keywords: forced degradation study; stability; non-steroidal anti-inflammatory drug; naproxen; stability indicative method; thermal analysis.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Curva de Van Deemter para diferentes tamanhos de partícula (10, 5, 3, 1,7 $\mu\text{m}$ ).....	28
<b>Figura 2</b> - Representação da estrutura química do naproxeno sódico.....	30
<b>Figura 3</b> - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).....	52
<b>Figura 4</b> - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).....	53
<b>Figura 5</b> - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de placebo sem zoom (A) e com zoom (B).....	54
<b>Figura 6</b> - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B)....	55
<b>Figura 7</b> - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).....	56
<b>Figura 8</b> - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra de placebo sem zoom (A) e com zoom (B).....	57
<b>Figura 9</b> - Mecanismos de ressonância do naproxeno.....	58
<b>Figura 10</b> - Híbrido de ressonância da molécula de naproxeno.....	58
<b>Figura 11</b> - Cromatograma referente à degradação ácida utilizando solução HCl 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B)....	59



<b>Figura 12</b> - Cromatograma referente a degradação ácida utilizando solução HCl 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).....	60
<b>Figura 13</b> - Cromatograma referente a degradação ácida utilizando solução HCl 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de placebo, sem zoom (A) e com zoom (B).....	61
<b>Figura 14</b> - Cromatograma referente à degradação ácida utilizando solução HCl 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B)...	62
<b>Figura 15</b> - Cromatograma referente à degradação ácida utilizando solução HCl 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).....	63
<b>Figura 16</b> - Cromatograma referente à degradação ácida utilizando solução HCl 5 M em temperatura de 60°C por 96 horas na amostra, sem zoom (A) e com zoom (B).....	64
<b>Figura 17</b> - Reação de hidrólise ácida da molécula de naproxeno e possíveis produtos formados.....	65
<b>Figura 18</b> - Mecanismos de hidrólise ácida da molécula de naproxeno.....	66
<b>Figura 19</b> – Mecanismo de estabilização da molécula de NAP.....	66
<b>Figura 20</b> - Cromatograma referente à degradação em meio oxidativo utilizando solução de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3,0% por 10 dias na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).....	67
<b>Figura 21</b> - Cromatograma referente à degradação em meio oxidativo utilizando solução de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3,0% por 10 dias na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).....	68
<b>Figura 22</b> - Cromatograma referente à degradação em meio oxidativo utilizando solução de H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3,0% por 10 dias na amostra de placebo, sem zoom (A) e com zoom (B).....	69

<b>Figura 23</b> - Cromatograma referente à degradação úmida em câmara climática a 40 °C e 75% de umidade relativa por 10 dias na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B)...	70
<b>Figura 24</b> - Cromatograma referente à degradação úmida em câmara climática a 40 °C e 75% de umidade relativa por 10 dias na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).....	71
<b>Figura 25</b> - Cromatograma referente a degradação úmida em câmara climática a 40°C e 75% de umidade relativa por 10 dias na amostra de placebo, sem zoom (A) e com zoom (B).....	72
<b>Figura 26</b> - Cromatograma referente à degradação térmica a 60 °C por 10 dias na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).....	73
<b>Figura 27</b> - Cromatograma referente à degradação térmica a 60 °C por 10 dias na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).....	74
<b>Figura 28</b> - Cromatograma referente à degradação térmica a 60 °C por 10 dias na amostra de placebo, sem zoom (A) e com zoom (B).....	75
<b>Figura 29</b> - Cromatograma referente à degradação fotolítica na amostra de IFA NAP na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).....	76
<b>Figura 30</b> - Cromatograma referente à degradação fotolítica na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).....	77
<b>Figura 31</b> - Cromatograma referente a degradação fotolítica na amostra de placebo, sem zoom (A) e com zoom (B).....	78
<b>Figura 32</b> - Reação e mecanismos de fotodegradação da molécula de naproxeno.....	79

<b>Figura 33</b> - Distribuição das microespécies de NAP em função do pH do meio.....	82
<b>Figura 34</b> - Espectro de absorção do NAP Na <sup>+</sup> na região do ultravioleta.....	83
<b>Figura 35</b> - Espectro de absorção do NAP compostos relacionados A e L e naproxeno metil éster Na <sup>+</sup> na região do ultravioleta.....	83
<b>Figura 36</b> - Cromatograma referente à degradação ácida utilizando solução HCl 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra comprimido de NAP na concentração de 0,55 mg/mL, nas condições cromatográficas do método farmacopeico.....	84
<b>Figura 37</b> - Curva média obtida para linearidade do naproxeno sódico.....	88
<b>Figura 38</b> - Curva média obtida para linearidade do naproxeno composto relacionado A.....	88
<b>Figura 39</b> - Curva média obtida para linearidade do naproxeno composto relacionado L.....	89
<b>Figura 40</b> - Curva média obtida para linearidade do naproxeno metil éster.....	89
<b>Figura 41</b> - Representação gráfica dos resíduos para NAP.....	91
<b>Figura 42</b> - Representação gráfica dos resíduos para NAP composto relacionado A.....	92
<b>Figura 43</b> - Representação gráfica dos resíduos para NAP composto relacionado L.....	92
<b>Figura 44</b> - Representação gráfica dos resíduos para NAP metil éster.....	92
<b>Figura 45</b> - Diagramas experimentais de DSC da amostra do naproxeno sódico no tempo T0. A: Naproxeno sódico analisado sem maceração do material; B: Naproxeno sódico analisado após maceração do material.....	101
<b>Figura 46</b> - Diagramas experimentais de DSC da amostra do naproxeno sódico no tempo T30.....	102

<b>Figura 47</b> - Curvas experimentais de TGA da amostra do naproxeno sódico em (A) tempo T0 e (B) tempo T30.....	104
<b>Figura 48</b> - Diagramas experimentais de DSC. A: naproxeno sódico em T0; B: naproxeno sódico em T30; C: lactose em T0; D: lactose em T30.....	106
<b>Figura 49</b> - Diagramas experimentais de DSC das amostras da mistura binária naproxeno sódico + lactose no tempo T0 (A) e T30 (B).....	107
<b>Figura 50</b> - Curvas experimentais de TG. A: naproxeno sódico em T0; B: naproxeno sódico em T30; C: lactose em T0; D: lactose em T30.....	109
<b>Figura 51</b> - Curvas experimentais de TG das amostras da mistura binária naproxeno sódico + lactose no tempo T0 (A) e T30 (B).....	110
<b>Figura 52</b> - Diagramas experimentais de DSC. A: naproxeno sódico em T0; B: naproxeno sódico em T30; C: polivinilpirrolidona em T0; D: polivinilpirrolidona em T30.....	112
<b>Figura 53</b> - Diagramas experimentais de DSC das amostras da mistura binária naproxeno sódico + polivinilpirrolidona no tempo T0 (A) e T30 (B).....	112
<b>Figura 54</b> - Curvas experimentais de TG das amostras da mistura binária naproxeno sódico + polivinilpirrolidona no tempo T0 (A) e T30 (B).....	114

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Limites para notificação, identificação e qualificação dos produtos de degradação presentes em medicamentos.....	22
<b>Tabela 2</b> - Excipientes utilizados na fabricação de comprimidos revestidos contendo naproxeno sódico.....	32
<b>Tabela 3</b> - Condições de end points sugeridas no Guia TRS 929 da Organização Mundial de Saúde.....	36
<b>Tabela 4</b> - Condições iniciais utilizadas no estudo de degradação forçada.....	36
<b>Tabela 5</b> - Condições cromatográficas utilizadas para a determinação de impurezas do naproxeno sódico em comprimidos na Farmacopeia Americana 44ª edição.....	40
<b>Tabela 6</b> - Condições cromatográficas obtidas pelo software <i>Waters Column Calculator</i> .....	40
<b>Tabela 7</b> - Gradiente obtido pelo software <i>Waters Column Calculator</i> .....	41
<b>Tabela 8</b> - Condições cromatográficas do método indicativo de estabilidade para NAP utilizando UPLC.....	41
<b>Tabela 9</b> - Gradiente utilizado no método indicativo de estabilidade para NAP utilizando UPLC.....	42
<b>Tabela 10</b> - Preparo das soluções padrões de naproxeno sódico, naproxeno compostos relacionados A e L e naproxeno metil éster para avaliação da linearidade do método indicativo de estabilidade.....	44
<b>Tabela 11</b> - Preparo das amostras fortificadas para determinação da precisão do método analítico.....	45
<b>Tabela 12</b> - Preparo dos placebos fortificadas para determinação da precisão do método analítico.....	45
<b>Tabela 13</b> - Variações utilizadas para a realização do teste de Youden.....	47
<b>Tabela 14</b> - Variáveis utilizadas nos experimentos de robustez para desenvolvimento do método indicativo de estabilidade para NAP.....	47

<b>Tabela 15</b> - Resultados obtidos no teste de determinação de peso dos comprimidos contendo NAP.....	50
<b>Tabela 16</b> - Resultado do teste de solubilidade para o NAP.....	51
<b>Tabela 17</b> - Resultados do estudo de degradação forçada obtidos para o IFA.....	80
<b>Tabela 18</b> - Resultados do estudo de degradação forçada obtidos para o produto acabado.....	80
<b>Tabela 19</b> - Gradiente utilizado no método indicativo de estabilidade desenvolvido para NAP utilizando UPLC.....	85
<b>Tabela 20</b> - Condições cromatográficas definitivas do método indicativo de estabilidade desenvolvido para NAP utilizando UPLC.....	85
<b>Tabela 21</b> - Resultados de pureza de pico para o NAP em amostras de comprimido do estudo de degradação forçada.....	86
<b>Tabela 22</b> - Resultados de pureza de pico para o NAP em amostras de IFA do estudo de degradação forçada.....	87
<b>Tabela 23</b> - Resultado da avaliação da adequabilidade do sistema cromatográfico.....	87
<b>Tabela 24</b> - Valores de teor médio e DPR estimados para precisão e precisão intermediária para NAP em placebo contaminado.....	93
<b>Tabela 25</b> - Valores de teor médio e DPR estimados para precisão e precisão intermediária para NAP composto relacionado A em amostra contaminada.....	94
<b>Tabela 26</b> - Valores de teor médio e DPR estimados para precisão e precisão intermediária para NAP composto relacionado L em amostra contaminada.....	94
<b>Tabela 27</b> - Valores de teor médio e DPR estimados para precisão e precisão intermediária para NAP metil éster em amostra contaminada.....	95
<b>Tabela 28</b> - Porcentagem de recuperação de NAP adicionada ao placebo para avaliação da exatidão.....	96
<b>Tabela 29</b> - Porcentagem de recuperação média de NAP composto relacionado A adicionada a amostra para avaliação da exatidão.....	96

<b>Tabela 30</b> - Porcentagem de recuperação média de NAP composto relacionado L adicionada a amostra para avaliação da exatidão.....	96
<b>Tabela 31</b> - Porcentagem de recuperação média de NAP metil éster adicionada a amostra para avaliação da exatidão.....	96
<b>Tabela 32</b> - Efeito de cada variável calculada pelo método de Youden e a conclusão da influência sobre o NAP em placebo fortificado.....	97
<b>Tabela 33</b> - Efeito de cada variável calculada pelo método de Youden e a conclusão da influência sobre o NAP composto relacionado A em amostra fortificada.....	98
<b>Tabela 34</b> - Efeito de cada variável calculada pelo método de Youden e a conclusão da influência sobre o NAP composto relacionado L em amostra fortificada.....	98
<b>Tabela 35</b> - Efeito de cada variável calculada pelo método de Youden e a conclusão da influência sobre o NAP metil éster em amostra fortificada.....	98
<b>Tabela 36</b> - Avaliação da precisão e exatidão no limite de quantificação do NAP, NAP composto relacionado A e L, e NAP metil éster.....	99
<b>Tabela 37</b> - Resultados de teor de naproxeno sódico e substâncias relacionadas das misturas binárias 1:1 entre o IFA e excipientes propostos após teste a 40 °C e 75% U.R por 30 dias.....	100
<b>Tabela 38</b> - Resultados das médias dos ensaios DSC para o Naproxeno sódico.....	102
<b>Tabela 39</b> - Resultados das médias dos ensaios TGA para o Naproxeno sódico.....	105
<b>Tabela 40</b> - Resultados das médias dos ensaios DSC para a mistura Naproxeno sódico + Lactose.....	108
<b>Tabela 41</b> - Resultados das médias dos ensaios TGA para a mistura Naproxeno sódico + Lactose.....	111
<b>Tabela 42</b> - Resultados das médias dos ensaios DSC para a mistura Naproxeno sódico + Polivinilpirrolidona.....	113
<b>Tabela 43</b> - Resultados das médias dos ensaios TGA para a mistura Naproxeno sódico + Polivinilpirrolidona.....	115

## LISTA DE SIGLAS

ADT	Administração total diária
AINE	Antiinflamatório não esteroidal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CLAE	Cromatografia a líquido de alta eficiência
CLUE	Cromatografia a líquido de ultra eficiência
COX-2	Ciclo-oxigenase-2
DAD	Detector de arranjo de diodos
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
HCl	Ácido clorídrico
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use</i>
IFA	Insumo farmacêutico ativo
LC-MS	<i>Liquid Chromatography–Mass Spectrometry</i>
LC-NMR	<i>Liquid Chromatography-Nuclear Magnetic Resonance</i>
NaOH	Hidróxido de sódio
NAP Na <sup>+</sup>	Naproxeno sódico
OMS	Organização Mundial de Saúde
RDC	Resolução da diretoria colegiada
TG	Termogravimetria
ULPC	<i>Ultra Performance Liquid Chromatography</i>
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>18</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
2.1 Objetivo geral .....	20
2.2 Objetivos específicos.....	20
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>21</b>
3.1 Estabilidade de fármacos .....	21
3.2 Estudos de degradação forçada e métodos indicativos de estabilidade .	23
3.2.1 <i>Interações entre excipientes e IFA</i> .....	26
3.3 Técnicas empregadas no desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade .....	27
3.4 Anti-inflamatórios não esteroidais .....	29
3.4.1 <i>Naproxeno sódico</i> .....	29
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>32</b>
4.1 Materiais.....	32
4.1.1 <i>Insumo farmacêutico ativo, comprimidos e excipientes</i> .....	32
4.1.2 <i>Padrões de referência</i> .....	33
4.1.3 <i>Reagentes e vidrarias</i> .....	33
4.1.3 <i>Equipamentos e acessórios</i> .....	34
4.2 Métodos.....	34
4.2.1 <i>Determinação do peso médio dos comprimidos de NAP</i> .....	34
4.2.2 <i>Determinação da solubilidade do NAP IFA</i> .....	35
4.2.3 <i>Estudo de degradação forçada</i> .....	35
4.2.4 <i>Desenvolvimento de método indicativo de estabilidade por cromatografia líquida de ultra eficiência</i> .....	39
4.2.5 <i>Validação</i> .....	42
4.2.6 <i>Estudo da interação entre fármaco e excipientes</i> .....	48

<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
5.1 Determinação do peso médio.....	50
5.2 Determinação da solubilidade do NAP IFA .....	51
5.3 Estudo de degradação forçada .....	51
5.3.1 <i>Degradação em meio alcalino</i> .....	52
5.3.2 <i>Degradação em meio ácido</i> .....	59
5.3.3 <i>Degradação em meio oxidativo mediada por peróxido de hidrogênio</i> .....	67
5.3.4 <i>Degradação úmida</i> .....	69
5.3.5 <i>Degradação térmica</i> .....	72
5.3.6 <i>Degradação fotolítica</i> .....	75
5.4 Desenvolvimento de método indicativo de estabilidade por cromatografia líquida de alta eficiência .....	81
5.5 Validação.....	86
5.5.1 <i>Seletividade e adequabilidade do sistema</i> .....	86
5.5.2 <i>Linearidade</i> .....	88
5.5.3 <i>Precisão</i> .....	93
5.5.4 <i>Exatidão</i> .....	95
5.5.5 <i>Robustez</i> .....	97
5.5.6 <i>Limite de quantificação</i> .....	99
5.6 Estudo da interação entre fármaco e excipientes.....	100
5.6.1 <i>Estudo de degradação forçada com misturas binárias em condição de temperatura e umidade</i> .....	100
5.6.2 <i>Estudo de compatibilidade entre o naproxeno sódico e os excipientes da formulação por meio de análises térmicas</i> .....	100
<b>6 CONCLUSÕES .....</b>	<b>116</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>117</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A estabilidade de fármacos e medicamentos pode ser definida como a manutenção das características físicas, químicas e microbiológicas dentro dos critérios de qualidade estabelecidos e que devem ser mantidas ao longo de todo o prazo de validade. O conhecimento dos fatores ambientais e intrínsecos do produto, que afetam a estabilidade, é fundamental para o desenvolvimento da formulação e para a escolha da embalagem adequada para o produto, assim como para fornecer as condições de armazenamento e definir o prazo de validade (SILVA, 2009).

Recentemente, significativa atenção tem sido direcionada para melhor caracterização do perfil de degradação que um produto pode apresentar, com destaque aos produtos de degradação que podem ser originários diretamente da decomposição do fármaco ou de qualquer outro componente da formulação, incluindo a associação deles. Nesse sentido, a realização de estudos de degradação forçada permite o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade com especificidade e seletividade adequadas, bem como fornece informações acerca das possíveis rotas de degradação de um determinado produto. Os métodos indicativos de estabilidade, por sua vez, são imprescindíveis para avaliar a estabilidade de um medicamento (BRASIL, 2015).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) publicou a RDC 53 no ano 2015 visando estabelecer parâmetros para a avaliação da formação de produtos de degradação em medicamentos, para elaboração do perfil de degradação correspondente e para a notificação, identificação e qualificação dos produtos de degradação formados ao longo do prazo de validade do medicamento.

Uma técnica muito importante dentre as técnicas de separação utilizadas para o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade é a cromatografia a líquido de ultra eficiência (CLUE), que possui a capacidade de separar e quantificar misturas com um grande número de substâncias similares, como as obtidas durante os estudos de degradação forçada (COLLINS, 2006).

Por fim, a alta prevalência do uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINEs), como o naproxeno sódico, em todo o mundo, faz com que o desenvolvimento de métodos

indicativos de estabilidade para a garantia da qualidade e segurança deste medicamento tenha grande relevância (MELGAÇO, 2010). Nesse sentido, no presente trabalho foi realizado um estudo para o monitoramento dos produtos de degradação que foram formados no naproxeno sódico comprimido, visando a garantia da qualidade do medicamento que é oferecido à população.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Desenvolver e validar método indicativo de estabilidade seletivo para a determinação de naproxeno sódico em comprimidos e seus respectivos produtos de degradação. E investigar interações existentes entre o insumo farmacêutico ativo e possíveis excipientes de uma formulação.

### **2.2 Objetivos específicos**

- Submeter o insumo farmacêutico ativo naproxeno sódico, os comprimidos contendo esse fármaco e o placebo aos testes de degradação forçada e realizar análise crítica do perfil de degradação, avaliando fatores que podem interferir na estabilidade do medicamento.
- Desenvolver método indicativo de estabilidade seletivo para determinar o naproxeno sódico e seus produtos de degradação em comprimidos, utilizando cromatografia a líquido de ultra eficiência, acoplada à detector de arranjo de diodos (DAD).
- Validar o método desenvolvido de acordo com a legislação vigente.
- Investigar interações existentes entre o insumo farmacêutico ativo e os excipientes utilizados na produção dos comprimidos, empregando calorimetria exploratória diferencial, termogravimetria e cromatografia líquida de alta eficiência.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 Estabilidade de fármacos

A estabilidade é um atributo de qualidade crucial, que influencia não apenas a eficácia dos medicamentos, mas também a segurança dos pacientes (WU, 2018). De acordo com as normas sanitárias, espera-se que um medicamento possua estabilidade durante todo o seu prazo de validade, que pode ser definido como o tempo durante o qual o produto farmacêutico ou mesmo a matéria-prima isoladamente mantém, dentro dos limites especificados e durante todo o período de estocagem e uso, as condições e características adequadas para o uso (SILVA, 2009).

O conhecimento da estabilidade de uma molécula é útil para definir a formulação e escolher a embalagem adequada para o produto, assim como para estabelecer as condições de armazenamento e o prazo de validade (BLESSY, 2014).

Considerando que a estabilidade de um produto farmacêutico é influenciada por fatores ambientais como temperatura, umidade e luz, as condições empregadas para avaliação da estabilidade são baseadas nas condições climáticas. O mundo pode ser dividido em quatro regiões climáticas (I-IV). Os países da zona climática I e II adotam uma temperatura de  $(25 \pm 2)$  °C e umidade relativa de  $(60 \pm 5)\%$  para estudos de estabilidade de longa duração e  $(40 \pm 2)$  °C e umidade relativa de  $(75 \pm 5)\%$  em estudos de estabilidade acelerada (ICH, 2003). As zonas climáticas III (quente e seca) e IV (quente e úmida) englobam aqueles países que não foram cobertos pelo guia ICH Q1A-R2, estando o Brasil localizado na zona climática IV. Devido às divergências dos requisitos globais para a realização dos estudos de estabilidade para essas zonas climáticas, o comitê do ICH decidiu deixar a definição das condições de armazenamento para os respectivos países membros e para a OMS (ICH, 2012). O Brasil revisou suas legislações de estabilidade e definiu para os estudos de estabilidade de longa duração a condição de temperatura de  $(30 \pm 2)$  °C e umidade relativa de  $(75 \pm 5)\%$ . Os estudos de estabilidade acelerada conduzidos nos países pertencentes às zonas climáticas I, II, III e IV seguem as mesmas condições de armazenamento, sendo empregada temperatura de  $(40 \pm 2)$  °C e umidade relativa de  $(75 \pm 5)\%$  (CALDEIRA, 2014).

No Brasil, a ANVISA publicou em dezembro de 2015 a RDC nº 53/2015, que estabelece os parâmetros e limites para a notificação, identificação e qualificação dos produtos de degradação formados em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares, ao longo do seu prazo de validade, e dá outras providências (BRASIL, 2015). Na **Tabela 1** são apresentados os limites estabelecidos em função da dose máxima diária.

**Tabela 1** - Limites para notificação, identificação e qualificação dos produtos de degradação presentes em medicamentos.

	<b>Dose máxima diária<sup>1</sup></b>	<b>Limites<sup>2</sup></b>
<b>Limites de notificação</b>	≤ 1 g	0,1%
	> 1 g	0,05%
<b>Limites de identificação</b>	< 1 mg	1,0% ou 5 µg ATD, o que for menor
	1 mg – 10 mg	0,5% ou 20 µg ATD, o que for menor
	> 10 mg – 2 g	0,2% ou 2 mg ATD, o que for menor
	> 2 g	0,10%
<b>Limites de qualificação</b>	< 10 mg	1,0% ou 50 µg ATD, o que for menor
	10 mg – 100 mg	0,5% ou 200 µg ATD, o que for menor
	> 100 mg – 2 g	0,2% ou 3 mg ATD, o que for menor
	> 2 g	0,15%

1 - Quantidade máxima do insumo farmacêutico ativo administrado por dia.

2 - Limites dos produtos de degradação são expressos como a percentagem do insumo farmacêutico ativo ou como a administração total diária (ATD) de um produto de degradação.

De acordo com essa resolução, os produtos de degradação com percentual ou valor acima dos limites de notificação estabelecidos deverão ser reportados no estudo de estabilidade e estar incluído no limite de impurezas totais. Os produtos de degradação acima do limite de identificação deverão ter a estrutura química identificada e a quantificação individual deverá ser realizada. Já para produtos de degradação acima dos limites de qualificação deve-se apresentar, além da identificação da estrutura química e quantificação individual, o perfil de segurança estabelecido através da avaliação da segurança biológica (BRASIL, 2015).

Assim, para fins de registro de medicamentos nas agências regulatórias, os produtos de degradação devem ser quantificados a fim de se atender os limites estabelecidos. Os métodos analíticos mais utilizados para essa avaliação são os métodos de separação cromatográficos, como cromatografia líquida de alta eficiência e cromatografia gasosa que, quando acoplados a detectores sofisticados, são capazes de detectar o decréscimo quantitativo do fármaco e quantificar os produtos de degradação formados (LEITE, 2005).

### **3.2 Estudos de degradação forçada e métodos indicativos de estabilidade**

O ICH definiu o teste de estresse ou estudo de degradação forçada como “estudos realizados para elucidar a estabilidade intrínseca de um fármaco. Esses testes são parte da estratégia de desenvolvimento e normalmente são realizados em condições mais severas do que as usadas em estabilidade acelerada” (ICH, 2012). O teste de estresse pode ajudar a identificar os prováveis produtos de degradação, ajudando a estabelecer as vias de degradação e validar métodos indicativos de estabilidade (BAERTSCHI, 2016).

A ANVISA, por meio da RDC N° 53/2015, preconiza a realização de estudos de degradação forçada, que são testes realizados com o insumo farmacêutico ativo e com o produto acabado sob condições de estresse, como por exemplo, luz, temperatura, calor, umidade, hidrólise ácida/ básica e oxidação. Este estudo permite o desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade com especificidade e seletividade adequada, bem como fornece informações acerca das possíveis rotas de degradação de um determinado produto (BRASIL,2015).

De acordo com a RDC N° 53/2015, os estudos de degradação forçada devem ser conduzidos em um lote, em escala laboratorial, piloto ou industrial do medicamento. Para fins de comparação, a execução do estudo deve ser feita também com a formulação, com o placebo e no insumo(s) farmacêutico(s) ativo(s) isolado(s) e associado(s) no caso de associações em dose fixa. Devem ainda promover degradação em extensão suficiente a fim de permitir avaliação da formação de produtos de degradação. Os testes devem promover uma degradação superior a 10%



(dez por cento) e inferior àquela que levaria à degradação completa da amostra, comprometendo o teste. Nos testes em que a degradação for inferior a 10% a empresa deve apresentar justificativa técnica fundamentada (BRASIL, 2015).

Os resultados dos ensaios servirão de suporte para o desenvolvimento e a validação de métodos de análise do(s) produto(s) de degradação formado(s) e para a análise crítica do perfil de degradação do medicamento. Esta análise crítica deve contemplar a verificação da pureza cromatográfica do pico do insumo farmacêutico ativo no medicamento e a avaliação dos fatores que podem interferir de alguma forma na estabilidade do medicamento (BRASIL, 2015).

Recomenda-se que, quando aplicável e possível, sejam executadas cada uma das condições apresentadas a seguir: 1. ácida, utilizando-se solução tampão em pH abaixo de 7,0 ou um ácido mineral, como ácido clorídrico; 2. alcalina, utilizando-se solução tampão em pH acima de 7,0 ou um hidróxido de metal alcalino, como hidróxido de sódio; 3. oxidante, usando-se peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ou outro agente oxidante; 4. aquecimento (térmica seca), devendo ser feito sem aumento de umidade no ambiente, sem dissolver o produto; 5. umidade (térmica úmida), devendo ser feita no produto sem dissolver, mas com umidade relativa controlada e acima da umidade ambiente. Esta condição não precisa ser realizada no caso de formas farmacêuticas líquidas e semissólidas de base aquosa; 6. fotolítica, variando a quantidade de luz (medida em lux hora e/ou watt hora por metro quadrado); e 7. sob influência de íons de metais de transição, geralmente soluções de Ferro III ou Cobre II (BRASIL, 2015).

Muitos fármacos são considerados instáveis em meio aquoso e necessitam de intervenções durante a formulação e o armazenamento, para que a estabilidade da forma farmacêutica final e, conseqüentemente, a eficácia e segurança não sejam comprometidas; por esse motivo é realizada a condição de hidrólise (ROLIM, 2010).

A condição de oxidação também deve ser considerada, uma vez que muitas oxidações são reações em cadeia, que procedem lentamente sob a influência do oxigênio molecular. A estabilização de fármacos frente a condições oxidativas envolve

a observação de várias precauções durante a manufatura e a estocagem (ROLIM, 2010).

A temperatura é um dos mais importantes dentre os fatores ambientais envolvidos na degradação de produtos farmacêuticos, já que a velocidade da degradação química aumenta com o aumento da temperatura. A influência da temperatura pode ser reduzida pela correta forma de armazenamento: em temperatura ambiente, sob refrigeração ou congelamento (LEITE, 2005).

Outra condição bastante crítica para a estabilidade é a umidade. Não só fármacos higroscópicos são degradados pela umidade relativa do ar, mas também fármacos não higroscópicos sofrem fenômenos de alteração, quando a umidade é associada aos efeitos de temperatura. A água pode participar do processo de degradação química, como reagente, induzindo a hidrólise, hidratação, isomerização e outras reações químicas ou a adsorção de água na superfície do produto farmacêutico pode afetar seu estado físico e, conseqüentemente, a sua reatividade (LEITE, 2005).

A degradação fotolítica, por sua vez, é aquela que resulta da exposição à luz ultravioleta ou visível na faixa de comprimento de onda de 300 a 800 nm. De acordo com o guia do ICH, o fármaco deve ser submetido a uma dose de radiação visível de 1200 K.lux.h e de radiação ultravioleta de 200 W.h/m<sup>2</sup>. O teste é realizado para fornecer as informações necessárias para a manipulação, embalagem e rotulagem (CALDEIRA, 2014).

O estudo de degradação forçada é uma ferramenta de pesquisa utilizada para descobrir possíveis problemas de estabilidade de uma molécula ativa em medicamento, sendo capaz de fornecer dados para o desenvolvimento de método indicativo de estabilidade (BAERTSCHI, 2016), que é um procedimento analítico validado que quantifica de forma precisa o ativo sem a interferência de impurezas do processo, como excipientes e produtos de degradação. O principal objetivo do método indicativo de estabilidade é monitorar os resultados durante os estudos de estabilidade visando garantir a segurança, eficácia e qualidade do medicamento (CIONE, 2007). É importante ressaltar que os produtos de degradação formados durante o estudo de degradação forçada podem ser considerados produtos de degradação em potencial,

mas os produtos de degradação “reais” que ocorrem durante o armazenamento e transporte (conforme indicados nos estudos de estabilidade acelerada e de longa duração) devem ser um subconjunto dos produtos de degradação em potencial (BAERTSCHI, 2016).

### 3.2.1 Interações entre excipientes e IFA

Durante o estudo de degradação o placebo também é analisado, tendo em vista a possível interação dos excipientes com o insumo farmacêutico ativo (IFA). Embora os excipientes sejam farmacologicamente inertes, eles podem interagir com o princípio ativo na forma farmacêutica e afetar a estabilidade do medicamento, seja em relação aos aspectos físicos, como propriedades organolépticas ou mudanças na dissolução, ou químicos, como a degradação (CHADHA, BHANDARI, 2014).

As técnicas termoanalíticas são úteis na fase de pré-formulação de formas farmacêuticas sólidas. A calorimetria exploratória diferencial (DSC), a termogravimetria (TG) e a termogravimentria diferencial (DTG) são utilizadas por serem ferramentas rápidas para avaliação de qualquer interação físico-química entre os componentes da formulação (CHADHA, BHANDARI, 2014).

A DSC permite obter informações sobre propriedades físicas e incompatibilidade química entre os componentes da formulação através do surgimento, deslocamento ou desaparecimento de eventos endotérmicos ou exotérmicos e/ou variações relevantes nos valores de entalpia. No entanto, a interpretação dos resultados de DSC requer uma avaliação cuidadosa para evitar conclusões errôneas (MURA *et al.*, 1998).

A termogravimetria (TG) é outro método térmico que vem sendo utilizado para verificar a compatibilidade entre insumo farmacêutico ativo e excipientes. Essa técnica não fornece informações sobre reações que não envolvem mudança de massa, como transformações polimórficas e reações de dupla decomposição. O TG é uma técnica quantitativa e pode ser usada para quantificar uma substância em uma mistura. No caso de incompatibilidade, o TG fornece uma comparação de perfis térmicos do insumo farmacêutico ativo e os excipientes com as suas misturas. Portanto, sempre

que possível, outras técnicas térmicas como DSC e não térmicas, como espectroscopia de infravermelho (IR) e difração de pó de raios-X (XRPD) devem ser usadas em conjunto com a TG (ROJEK, 2017).

### **3.3 Técnicas empregadas no desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade**

O método indicativo de estabilidade desenvolvido deve ser validado de acordo com a RDC N° 166/2017, que dispõe sobre a validação de métodos analíticos, sendo avaliados os parâmetros linearidade, precisão, exatidão, especificidade, limite de quantificação, limite de detecção e robustez do método (BRASIL, 2017). O método desenvolvido deve permitir a identificação e quantificação dos produtos de degradação encontrados (QUADRI, 2014).

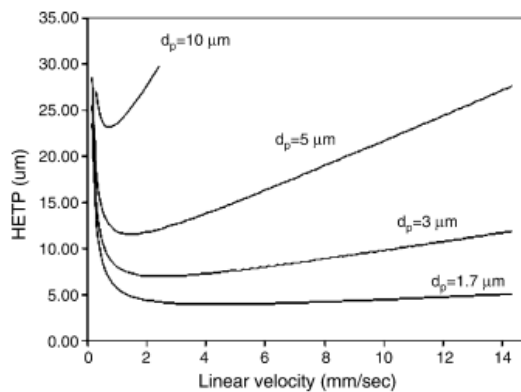
A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE ou HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*) é uma técnica muito importante dentro do escopo das técnicas de separação, uma vez que possui a capacidade de separar e quantificar misturas com um grande número de substâncias similares em poucos minutos, com alta resolução, eficiência e sensibilidade (COLLINS, 2006). Tal técnica está fundamentada basicamente na migração diferencial dos componentes de uma mistura, devido a diversas interações que podem ocorrer entre a amostra e as fases estacionária e móvel, que, dependendo da afinidade do(s) composto(s), pode ficar mais retido na coluna ou não (RESCK, 2019).

O uso da CLAE acoplada a detector de arranjos de diodos permite avaliar se há coeluição dos picos de degradação com o pico de interesse. Com esse detector é possível obter espectros em uma faixa de comprimento de onda para os picos detectados e, através de software, comparar os espectros para determinar a pureza de pico (CIONE, 2017).

Segundo as equações de Van Deemter, a eficiência do processo cromatográfico é proporcional à diminuição do tamanho das partículas da fase estacionária. De acordo com seu modelo o alargamento da banda, que descreve a relação entre altura equivalente do prato teórico e a velocidade linear, um dos termos é dependente do

diâmetro da partícula empacotada na coluna analítica. Dessa forma, um diâmetro de partícula menor pode reduzir a altura equivalente do prato teórico, resultado em uma maior eficiência e um perfil mais plano na curva de Van Deemter (**Figura 1**) (NOVÁKOVÁ, 2006).

**Figura 1** - Curva de Van Deemter para diferentes tamanhos de partícula (10, 5, 3, 1,7  $\mu\text{m}$ ).



Fonte: (NOVÁKOVÁ, 2006).

A cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE) ou *Ultra Performance Liquid Chromatography* (UPLC) baseia-se nos mesmos princípios da cromatografia líquida de alta eficiência e utiliza fases estacionárias com partículas menores que 2  $\mu\text{m}$ . O uso de partículas dessa dimensão associada às altas velocidades lineares da fase móvel aumentam a resolução, a detectabilidade e diminuem o tempo de análise (MALDANER, 2009).

Técnicas convencionais ou hífenizadas, como o acoplamento da cromatografia líquida com a espectrometria de massas (LC-MS) e com a ressonância magnética nuclear (LC-NMR), podem ser utilizadas na identificação e caracterização dos produtos de degradação. O uso dessas técnicas pode fornecer uma melhor elucidação das estruturas das impurezas, fornecendo assim informações sobre o potencial de genotoxicidade e, conseqüentemente, um controle mais rígido de seus limites (BLESSY, 2014).

### 3.4 Anti-inflamatórios não esteroidais

Os anti-inflamatórios não esteroides (AINEs) constituem atualmente a classe de fármacos mais comumente prescrita no mundo todo, devido aos seus efeitos analgésico e anti-inflamatório. A frequência do uso de AINEs, incluindo os inibidores não seletivos e os inibidores seletivos da enzima ciclo-oxigenase-2 (COX-2), tem crescido bastante nos últimos anos. Dentre as principais causas para esse crescimento, destacam-se a grande facilidade de acesso aos medicamentos contendo essa classe de fármacos e uma população mais idosa com concomitantes doenças reumáticas (MELGAÇO, 2010).

Estudos têm tentado diferenciar AINEs em termos de potência, mas um AINE ou classe de AINEs não foi demonstrado mais potente em termos de eficácia clínica. Na maioria dos casos, o perfil de efeitos colaterais determina a seleção de AINEs em vez das diferenças sutis na eficácia (GREEN, 2001).

Inibidores seletivos da COX-2 são associados com menos dano gastrointestinal que AINES convencionais. No entanto, ainda apresentam moderados efeitos adversos, como dispepsia e náusea. Mecanismos que tentam explicar a persistência destes sintomas ainda não são claros (KUMMER, 2002).

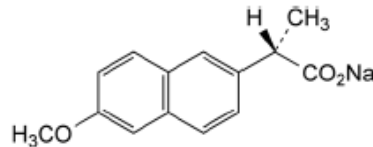
No período de 1994 a 1997, aproximadamente 10% das intoxicações medicamentosas registradas em seis diferentes centros de intoxicação do Brasil foram causadas por AINEs (MELGAÇO, 2010).

#### 3.4.1 Naproxeno sódico

O naproxeno sódico (NAP Na<sup>+</sup>) ou ácido 2-(6-metoxinaftalen-2-il)-propanoico (**Figura 2**) é um antiinflamatório não esteroidal (AINE). É eficaz para o tratamento de doenças reumáticas, como artrite reumatóide, osteoartrite, reumatismo não articular, lesão traumática aguda e no tratamento e profilaxia contra dor aguda, como enxaqueca, cefaléia tensional, dor pós-operatória e dor pós parto (TOOD, 1990). O naproxeno é administrado exclusivamente como o enantiômero S, que é farmacologicamente ativo.

É formulado como ácido livre ou como sal de sódio, que por sua vez possui uma absorção mais rápida no trato gastrointestinal (ELSINGHORST et al., 2011).

**Figura 2** - Representação da estrutura química do naproxeno sódico.



Fonte: EUROPE, 2019.

O mecanismo de ação do naproxeno, assim como de outros AINEs, depende da inibição da ciclooxigenase (COX), que existem em duas isoformas, a COX-1 e a COX-2. A COX-1 catalisa a biossíntese de prostaglandinas, que são importantes para manter as funções fisiológicas, como por exemplo, síntese de prostaciclina, que por sua vez é citoprotetora quando liberada pela mucosa gástrica, ou antitrombogênica, quando lançada pelo endotélio vascular. Já a COX-2 produz prostaglandinas que estão envolvidas em processos fisiopatológicos como inflamação, febre e dor. Os efeitos adversos, como hemorragia gastrointestinal e ulceração, relacionados ao uso de AINEs foram associados à inibição da COX-1, o que levou ao desenvolvimento de inibidores COX-2 seletivos. O NAP é parcialmente seletivo para COX-2 (ELSINGHORST et al., 2011).

Por via oral, NAP é rápida e completamente absorvido no trato gastrointestinal, com níveis plasmáticos elevados, com o alívio da dor obtido por volta de 30 minutos após sua administração e picos plasmáticos atingidos em 1 a 4 horas, dependendo da fórmula, forma farmacêutica e da ingestão de alimento. A meia-vida de eliminação de NAP é de aproximadamente 14 horas, sendo variável de acordo com a faixa etária do paciente. A excreção dos metabólitos é quase inteiramente pela via urinária (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

Os efeitos adversos mais comuns relacionados ao uso de naproxeno sódico são dor abdominal, constipação, diarreia, náuseas, estomatite, azia, dispneia, sede, sonolência, vertigens, enxaquecas, tontura, erupções cutâneas, prurido, sudorese,

fadiga, depressão, distúrbios auditivos e visuais, palpitações, púrpura, edemas e dispepsia (BRUNTON; CHABNER; KNOLLMANN, 2012).

O NAP é um pó cristalino, branco ou quase branco, sendo praticamente insolúvel em água e solúvel em álcool etílico (BRASIL, 2019). Possui ponto de fusão de 152 °C, logP de 3,18 e pKa de 4,15 (DRUGBANK, 2022).



## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Materiais

#### 4.1.1 Insumo farmacêutico ativo, comprimidos e excipientes

- Naproxeno sódico insumo farmacêutico ativo (IFA) - Fabricado por Divi's Laboratories Limited. Lote: 2-SN-3281020. Teor: 99,7%. Válido até 09/2025.
- Naproxeno sódico comprimido revestido (550 mg) – Fabricados por Globo Pharma. Lote 310P-001/21. Válido até 12/2023.
- Excipientes utilizados na produção dos comprimidos **(Tabela 2)**.

**Tabela 2** - Excipientes utilizados na fabricação de comprimidos revestidos contendo naproxeno sódico.

<b>Excipiente</b>	<b>Função farmacotécnica</b>
Álcool etílico 96 GL	Solvente
Celulose microcristalina	Diluyente
Croscarmelose sódica	Desintegrante
Dióxido de silício	Deslizante
Estearato de magnésio	Lubrificante
Lactose	Diluyente
Polietilenoglicol	Agente de brilho
Polivinilpirrolidona	Aglutinante
Opadry	Sistema de revestimento

#### 4.1.2 Padrões de referência

As substâncias químicas de referência utilizadas no desenvolvimento do método analítico foram adquiridas da Farmacopeia Americana (USP) e da *European Directorate for the Quality of Medicines and Health Care* (EDQM):

- Naproxeno sódico – fabricante: USP; lote: R04290; validade: 30/09/2023
- Naproxeno sódico composto relacionado A – fabricante: USP; lote: F008D0; validade: vigente
- Naproxeno impureza L – fabricante: EDQM; lote: 3.0; validade: vigente
- Naproxeno metil éster – fabricante: Sigma; lote: BCCC6676; validade: 12/2022

#### 4.1.3 Reagentes e vidrarias

- Reagentes grau analítico:
  - Ácido clorídrico (HCl) – Química Moderna (Suiça)
  - Ácido fosfórico 85% - Supelco (Darmstadt, Alemanha)
  - Fosfato de potássio monobásico – Inlab (São Paulo, Brasil)
  - Trietilamina – Sigma (Burlington, Estados Unidos)
  - Hidróxido de sódio (NaOH) - Supelco (Darmstadt, Alemanha)
  - Peróxido de hidrogênio – Química Moderna (Rio de Janeiro, Brasil).
  - Sulfato de cobre - Merck (Darmstadt, Alemanha)
  
- Reagentes grau cromatográfico:
  - Acetonitrila – J. T. Baker (Xalostoc, México)
  - Água ultrapura obtida em sistema Millipore
  - Metanol – Merck (Darmstadt, Alemanha)
  
- Vidrarias:
  - Pipetas, buretas, e balões volumétricos calibrados.
  - Béqueres, placas de petri, tubos de ensaio, gral de porcelana, pistilo de porcelana, seringas e kit de filtração.

#### 4.1.3 Equipamentos e acessórios

- Aparelho de ultrassom Ultronique, modelo Q9.5/40A.
- Balança analítica Sartorius com precisão de 0,01 mg.
- Bomba de vácuo Fanem, modelo 089/CAL.
- Coluna cromatográfica Acquity UPLC BEH C18 (50 x 2.1 mm; 1,7  $\mu\text{m}$ ).
- Centrífuga Jouan, modelo MR23i.
- Cromatógrafo a líquido de ultra eficiência Waters, composto de bomba quaternária, injetor automático, forno para coluna, detector de arranjo de diodos e software Empower.
- Estufa Binder, modelo VD115-230V.
- Filtros de membrana celulose regenerada Sartorius 47 mm x 0,45  $\mu\text{m}$
- Filtros de PVDF para seringa Sartorius 0,45  $\mu\text{m}$
- Potenciômetro, Mettler toledo, modelo Seven Easy
- Sistema de purificação de água Millipore, modelo 3310.
- Repipetador automático Brand, modelo Handy step eletrônico.
- Câmara de fotoestabilidade Mecalor, modelo EC/0,2/R-F.
- Câmara climática Mecalor, modelo EC/37/AR-URC.
- Software Excell 2007.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Determinação do peso médio dos comprimidos de NAP

Pesou-se, individualmente, 20 comprimidos e determinou-se o peso médio. Posteriormente, calculou-se o desvio de cada unidade em relação ao peso médio. O critério adotado para os comprimidos revestidos foi que seriam toleradas, no máximo, duas unidades fora do limite de  $\pm 5,0\%$ , em relação ao peso médio, porém nenhuma unidade poderia estar acima ou abaixo de  $\pm 10,0\%$  (FARMACOPEIA, 2019).

#### 4.2.2 Determinação da solubilidade do NAP IFA

A solubilidade do NAP IFA foi avaliada nos solventes utilizados como agentes degradantes (ácido clorídrico 0,1 e 5 M, hidróxido de sódio 0,1 e 5 M e peróxido de hidrogênio 3% (v/v)) e nos solventes água, metanol e acetonitrila.

O teste foi realizado conforme descrito na Farmacopeia Brasileira 6ª edição, à temperatura de  $25 \pm 5$  °C. Pesou-se 10 mg de NAP IFA e transferiu-se para erlenmeyer de 250 mL. Foram adicionadas inicialmente 1,0 mL de cada solvente com posterior agitação. Alíquotas sucessivas foram adicionadas até que se observasse a completa solubilização do IFA. O IFA foi classificado como solúvel quando foi necessário 1,0 mL para sua solubilização. Por outro lado, quando mais de 100,0 mL foram utilizados, classificou-se o IFA como muito pouco solúvel.

#### 4.2.3 Estudo de degradação forçada

O NAP IFA, comprimidos triturados e placebo foram expostos à degradação em meios alcalino, ácido e de oxidação por peróxido de hidrogênio. Também foram submetidos às condições de degradação térmica, úmida e fotolítica. O estudo de degradação forçada foi inicialmente conduzido de acordo as condições de *end point* do Guia TRS 929 da Organização Mundial de Saúde (**Tabela 3**), sendo as condições iniciais utilizadas no estudo de degradação forçada descritas na **Tabela 4**. Tais condições foram utilizadas com o objetivo de atingir uma degradação mínima de 10% do ativo, uma vez que, não havendo degradação nessas condições, o produto já seria considerado estável. Posteriormente, as amostras de IFA, placebo e produto acabado também foram degradadas em condições mais drásticas a fim de se comprovar a capacidade do método de quantificar as impurezas de degradação.

**Tabela 3** - Condições de *end points* sugeridas no Guia TRS 929 da Organização Mundial de Saúde.

Fator de estresse	Condição	Tempo
Calor	60 °C	1 – 10 dias
Umidade	75% de umidade relativa	1 – 10 dias
Ácido	Ácido clorídrico 0,1 N	1 – 10 dias
Base	Hidróxido de sódio 0,1 N	1 – 10 dias
Oxidação	Peróxido de hidrogênio 3%	1 – 3 horas
Fotólise	Haleto metálico, mercúrio, xenônio ou lâmpada fluorescente ultravioleta B	1 – 10 dias
Íons metálicos (opcional)	Fe <sup>2+</sup> ou Cu <sup>2+</sup>	1 – 10 dias

Fonte: Adaptado de WHO, 2005.

**Tabela 4** - Condições iniciais utilizadas no estudo de degradação forçada.

Fator de estresse	Condição	Tempo
Calor	60 °C	10 dias
Umidade	75% de umidade relativa	10 dias
Ácido	Ácido clorídrico 0,1 N	10 dias
Base	Hidróxido de sódio 0,1 N	10 dias
Oxidação	Peróxido de hidrogênio 3%	10 horas
Fotólise	Não menos que 1,2 milhões de lux.hora, integrados a uma energia ultravioleta próxima de não mais que 200 watt.hora/m <sup>2</sup>	Não se aplica

#### 4.2.3.1 Degradação em meio alcalino

O estudo de degradação forçada em meio alcalino foi inicialmente conduzido nas condições de *end point* do Guia TRS 929 da Organização Mundial de Saúde (**Tabela 3**). Desta forma, as amostras foram expostas a solução de NaOH 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias. Logo após, a fim de se comprovar o poder discriminativo do método, as amostras foram expostas a solução de NaOH 5 M por

24, 48 e 96 horas a 60 °C, para que fosse obtida uma degradação superior a 10,0% e inferior àquela que levaria à degradação completa da amostra.

As amostras foram obtidas pesando-se quantidade de pó equivalente a 50,0 mg de NAP Na<sup>+</sup> e transferindo para balão volumétrico de 50,0 mL. A seguir, adicionou-se 5,0 mL da solução de hidróxido de sódio 0,1 M, mantida na temperatura ambiente, ou 5,0 mL da solução de hidróxido de sódio 5 M, mantida em banho-maria a 60°C. Decorrido o tempo de exposição, foi adicionado 20,0 mL de diluente, (metanol e água purificada - 80:20), seguida de sonicação por 10 minutos. Os balões foram aferidos com o diluente e homogeneizados. A solução foi filtrada com filtro de seringa de 0,20 µm e transferida para vial.

Para calcular a recuperação das amostras degradadas, as áreas do pico de interesse obtidos para as amostras submetidas à degradação foram comparadas com uma área obtida para a amostra controle. As amostras de NAP IFA e comprimidos controle também foram preparadas na concentração de 1,0 mg/mL. As amostras controle dos comprimidos foram obtidas pesando-se quantidade de pó equivalente a 50,0 mg de NAP Na<sup>+</sup> e transferindo para balão volumétrico de 50,0 mL. Na sequência, o pó foi solubilizado com 20,0 mL de diluente (metanol e água purificada - 80:20), seguida de sonicação por 10 minutos. Os balões foram aferidos com o diluente e homogeneizados. As soluções foram filtradas com filtro de seringa de 0,20 µm e transferidas para vial para posterior análise por CLUE. As soluções de NAP Na<sup>+</sup> controle do IFA foram preparadas conforme descrito acima, pesando-se aproximadamente 50,0 mg de NAP Na<sup>+</sup>. Já as soluções controle do placebo foram preparadas pesando-se quantidade proporcional de placebo, sendo essa massa, cerca de 25,0 mg.

#### 4.2.3.2 Degradação em meio ácido

Assim como a degradação em ambiente alcalino, a degradação em meio ácido foi inicialmente conduzida nas condições de *end point* do Guia TRS 929 da Organização Mundial de Saúde (**Tabela 3**) Assim, as amostras foram expostas a solução de HCl 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias. Posteriormente, realizou-se testes com

solução de HCl 5 M por 24, 48 e 96 horas a 60 °C, para que uma se obtivesse degradação superior a 10,0% e inferior àquela que levaria à degradação completa da amostra.

As amostras foram obtidas nessa condição conforme descrito para a degradação em meio alcalino (4.2.3.1), sendo utilizada as soluções de degradação HCl 0,1 M e 5 M. Para o preparo dessas amostras foi necessário adicionar 5,0 mL de metanol (cossolvente) de modo a garantir a solubilidade do IFA nesse agente estressante.

#### 4.2.3.3 Degradação em meio oxidativo com peróxido de hidrogênio

As amostras foram obtidas nessa condição conforme procedimento descrito para a degradação em meio alcalino (4.2.4.3), sendo utilizada a soluções de degradação H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3,0%, pelo tempo de 10 dias, condição superior ao *end point* do Guia TRS 929 da Organização Mundial de Saúde (**Tabela 3**).

#### 4.2.3.4 Degradação úmida

As amostras foram obtidas nessa condição de degradação, pesando-se quantidade de pó equivalente à 50,0 mg de NAP Na<sup>+</sup> e acondicionando em placa de Petri. Essas placas foram colocadas abertas em câmara climática com umidade relativa de 75%, sendo armazenadas nessa condição por 10 dias. Decorrido o tempo de exposição, as amostras foram transferidas para balão volumétrico de 50,0 mL, com auxílio de 20,0 mL de diluente sendo, em seguida, submetidas a ultrassom por 10 minutos. Os balões foram aferidos com o diluente e homogeneizados. A solução foi filtrada com filtro de seringa de 0,20 µm e transferida para vial.

#### 4.2.3.5 Degradação térmica

Para a realização do estudo de degradação térmica, pesou-se quantidade de pó equivalente à 50,0 mg de NAP Na<sup>+</sup> e acondicionou-se em placa de Petri, que foram colocadas em estufa de secagem a 60 °C, sendo armazenadas nessa condição por

10 dias. Decorrido o tempo de exposição, as amostras foram preparadas conforme descrito para a degradação úmida (4.2.3.4).

#### 4.2.3.6 Degradação fotolítica

Para a avaliação da degradação fotolítica, pesou-se quantidade de pó equivalente à 50,0 mg de NAP Na<sup>+</sup> e acondicionou-se em placa de Petri. O estudo foi realizado conforme exigido pelo ICH-Q1B, publicado em 1996, uma vez que este documento aborda as recomendações para testes de fotoestabilidade de maneira mais detalhada. Desta forma, as amostras foram expostas a não menos que 1,2 milhões de lux.hora, integrados a uma energia ultravioleta próxima de não mais que 200 watt.hora/m<sup>2</sup>. Decorrido o tempo de exposição, as amostras foram preparadas conforme descrito para a degradação úmida (4.2.3.4).

#### *4.2.4 Desenvolvimento de método indicativo de estabilidade por cromatografia líquida de ultra eficiência*

Para o desenvolvimento tomou-se como base o método descrito na monografia *Naproxen Sodium Tablets* da 44ª edição da Farmacopeia Americana, que utiliza a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. As condições cromatográficas utilizadas neste método estão descritas na **Tabela 5**.



**Tabela 5** - Condições cromatográficas utilizadas para a determinação de impurezas do naproxeno sódico em comprimidos na Farmacopeia Americana 44<sup>o</sup> edição.

<b>Parâmetros</b>	<b>Condição</b>
Coluna	C18 (150 x 4,6 mm, 5 µm)
Composição da fase móvel	Tampão fosfato de potássio monobásico 10 mM pH 6,5:Acetonitrila
Comprimento de onda	236 nm
Modo de eluição	Gradiente
Vazão da fase móvel	1,0 mL/min
Temperatura do forno	40 °C
Volume de injeção	10 µL
Tempo de corrida	60 minutos

A partir do resultado obtido empregando o método por CLAE, optou-se por transferir o método para a CLUE utilizando o software *Waters Column Calculator*. O software auxilia na transferência, uma vez que permite dimensionar volume de injeção, pressão do sistema, tempo de corrida, vazão da fase móvel e proporção do gradiente, a partir das especificações da coluna cromatográfica que se pretende utilizar. As condições cromatográficas fornecidas pelo software estão descritas na **Tabela 6** e o gradiente proposto conforme **Tabela 7**.

**Tabela 6** - Condições cromatográficas obtidas pelo *software Waters Column Calculator*

<b>Parâmetros</b>	<b>Condição</b>
Coluna	C18 (50 x 2,1 mm, 1,7 µm)
Composição da fase móvel	Tampão fosfato de potássio monobásico 10 mM pH 6,5:Acetonitrila
Comprimento de onda	236 nm
Modo de eluição	Gradiente
Vazão da fase móvel	0,4 mL/min
Temperatura do forno	40 °C
Volume de injeção	0,7 µL
Tempo de corrida	10,42 minutos

**Tabela 7** - Gradiente obtido pelo software *Waters Column Calculator*

Tempo (min)	Acetonitrila (%)	Fase aquosa (%)	Eluição
0 – 0,87	15	85	Isocrática
0,87 – 4,34	15 → 40	85 → 60	Gradiente linear
4,34 – 7,82	40 → 50	60 → 50	Gradiente linear
7,82 – 8,68	50 → 85	50 → 15	Gradiente linear
8,68 – 10,42	15	85	Isocrática

Venkatarao e colaboradores (2012) publicaram um método por cromatografia líquida de alta eficiência para a determinação de substâncias relacionadas em naproxeno. Desta forma, foram realizadas modificações no comprimento de onda e volume de injeção até obter-se aquele no qual as moléculas avaliadas tivessem absorvidade adequada para quantificação levando-se em conta os limites já estabelecidos na monografia oficial.

As condições cromatográficas utilizadas para o estudo de degradação e validação do método se encontram descritas na **Tabela 8** e o gradiente definitivo no qual se obteve uma melhor resolução entre os picos, com boa assimetria e menor tempo, se encontra descrito na **Tabela 9**.

**Tabela 8** - Condições cromatográficas do método indicativo de estabilidade para NAP utilizando UPLC.

Parâmetros	Condição
Coluna	Acquity UPLC BEH C18 50 x 2,1 mm (1,7 µm)
Composição da fase móvel	Metanol: ACN: Tampão fosfato de potássio monobásico 20 mM pH 7,0 (Tabela 8)
Comprimento de onda	236 nm
Modo de eluição	Gradiente
Vazão da fase móvel	0,3 mL/min
Temperatura do forno	40 °C
Volume de injeção	1,0 µL
Tempo de corrida	15 minutos

**Tabela 9** - Gradiente utilizado no método indicativo de estabilidade para NAP utilizando UPLC.

Tempo (min)	Metanol (%)	Acetonitrila (%)	Fase aquosa (%)	Eluição
0 - 2	10 → 15	10 → 15	80 → 70	Gradiente linear
2 - 5	15 → 25	15 → 25	70 → 50	Gradiente linear
5 - 6	25 → 35	25 → 35	50 → 30	Gradiente linear
6 - 8,5	35	35	30	Isocrática
8,5 - 9,5	35 → 10	35 → 10	30 → 80	Gradiente linear
9,5 - 15	10	10	80	Isocrática

#### 4.2.5 Validação

O método para determinação de naproxeno sódico em comprimidos revestidos foi validado seguindo a RDC 166/2017 da ANVISA (BRASIL, 2017) na categoria de teste de impureza quantitativo, para posterior acompanhamento dos estudos de estabilidade do produto acabado.

Seguindo o que é preconizado na monografia compendial para comprimidos de naproxeno, o presente método foi desenvolvido também com o objetivo de determinar as impurezas conhecidas, sendo elas naproxeno compostos relacionados A e L e naproxeno metil éster, todos na concentração de 0,2%; e as impurezas desconhecidas, na concentração de 0,2%. Considerando este limite de 0,2% e a concentração da amostra de 1,0 mg/mL, a concentração de 100% utilizada na validação foi de 0,2 µg/mL.

Os parâmetros avaliados na validação foram seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez e limites de quantificação. Para a avaliação estatística, empregou-se o software Microsoft Excel 2007.

##### 4.2.5.1 Seletividade e adequabilidade do sistema

Para demonstrar que o sistema estava apto para o uso pretendido foi realizada a avaliação da adequabilidade do sistema, injetando-se no cromatógrafo três vezes a solução padrão de NAP Na<sup>+</sup> a 2,0 µg/mL e avaliando os parâmetros assimetria do pico, pratos teóricos e os desvios padrões relativos da área do pico de NAP Na<sup>+</sup> e do seu tempo de retenção.

A seletividade do método proposto foi avaliada preparando-se solução amostra dos comprimidos fortificada com as impurezas conhecidas, solução amostra diluída, solução placebo e diluente. Além disso, a seletividade também foi comprovada com a avaliação das amostras de comprimido de naproxeno sódico submetidas às condições de degradação forçada e as soluções branco contendo os agentes estressantes. Foi analisado nos cromatogramas obtidos, se ocorria a coeluição de interferentes no mesmo tempo de retenção do NAP Na<sup>+</sup>, além da pureza dos picos de NAP Na<sup>+</sup>.

#### 4.2.5.2 Linearidade

A concentração de trabalho foi definida considerando a especificação das impurezas conhecidas e desconhecidas (0,2%) descrita em compendio oficial e levando em consideração a concentração da solução amostra (1,0 mg/mL) que seria utilizada para avaliação dos produtos de degradação.

A linearidade da resposta foi determinada analisando 5 níveis de concentração (40%, 60%, 80%, 100% e 120% da concentração de trabalho) originadas de três soluções padrão estoque preparadas de maneira independente. Cada solução estoque deu origem a uma curva de linearidade, sendo a segunda diluição aferida com o diluente do método (metanol e água ultrapurificada - 80:20). As soluções padrão estoque foram preparadas conforme descrito a seguir, assim como as diluições realizadas para a avaliação da linearidade (**Tabela 10**).

##### *Solução padrão estoque*

As soluções padrão estoque foram obtidas pesando-se, aproximadamente, 2,0 mg das substâncias químicas de referência de naproxeno sódico, naproxeno composto relacionado A e L, e naproxeno metil éster. As massas foram transferidas para balão

volumétrico de 10,0 mL, solubilizando-a com 50,0 mL de diluente seguida de sonicação por 10 minutos. Os balões foram aferidos com o diluente, homogeneizados e utilizados para as diluições descritas a seguir.

**Tabela 10** - Preparo das soluções padrões de naproxeno sódico, naproxeno compostos relacionados A e L e naproxeno metil éster para avaliação da linearidade do método indicativo de estabilidade.

Nível	Intervalo linear (%)	Volume da solução estoque (mL)	Volume final (mL)	Concentração de NAP Na <sup>+</sup> e suas impurezas (µg/mL)
1	40	0,08	20	0,8
2	60	0,12	20	1,2
3	80	0,16	20	1,6
4	100	0,20	20	2,0
5	120	0,24	20	2,4

As três curvas obtidas foram tratadas por regressão linear utilizando o Método dos Mínimos Quadrados Ordinários (MMQO) para obtenção da equação da reta.

Empregou-se o teste F na análise de variância com o objetivo de testar a significância da estimativa do coeficiente associado à variável independente – x, concentração, e calcular o coeficiente de determinação ( $R^2$ ), com o objetivo de averiguar o grau de explicação do modelo. A homocedasticidade, isto é, homogeneidade da variância dos resíduos foi avaliada pelo teste de Cochran (INMETRO, 2011).

Após essas análises, foi construída a curva analítica das respostas em função da concentração do analito para o NAP Na<sup>+</sup>, NAP composto relacionado A e L, e NAP metil éster, assim como a representação gráfica dos mesmos. Foi obtido o gráfico de dispersão dos resíduos, determinada a equação da reta de regressão de y em x e a avaliada a associação linear entre as variáveis por meio dos coeficientes de correlação (R) e determinação ( $R^2$ ).

#### 4.2.5.3 Precisão

A repetibilidade foi avaliada pelo mesmo analista, no mesmo dia, por meio da análise de 9 réplicas, sendo três preparações independentes de cada concentração nos níveis 40%, 100% e 120% da concentração de trabalho. Já a precisão intermediária foi avaliada realizando o mesmo procedimento por analistas diferentes e em dias diferentes.

A avaliação da precisão para NAP compostos relacionados A e L e NAP metil éster foi realizada em soluções amostras de comprimidos de naproxeno sódico fortificadas, sendo preparadas conforme descrito na **Tabela 11**.

**Tabela 11** - Preparo das amostras fortificadas para determinação da precisão do método analítico.

Nível	Nível de concentração (%)	Massa de NAP na amostra (mg)	Volume da solução estoque (mL)	Volume final (mL)	Concentração de NAP (mg/mL)	Concentração das impurezas de NAP ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	40	20,0	0,08	20	1,0	0,8
2	100	20,0	0,20	20	1,0	2,0
3	120	20,0	0,24	20	1,0	2,4

Já a avaliação da precisão para NAP  $\text{Na}^+$  foi realizada em soluções placebo de comprimidos fortificadas com concentrações conhecidas de NAP  $\text{Na}^+$ , pesando-se as massas descritas na **Tabela 12**.

**Tabela 12** - Preparo dos placebos fortificadas para determinação da precisão do método analítico.

Nível	Nível de concentração (%)	Massa de placebo de NAP na amostra (mg)	Volume da solução estoque (mL)	Volume final (mL)	Concentração de NAP ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	40	10,0	0,08	20	0,8
2	100	10,0	0,20	20	2,0
3	120	10,0	0,24	20	2,4

Para a avaliação da repetibilidade foram analisados os desvios padrões relativos para os valores obtidos no mesmo dia e nos dias diferentes. Para a avaliação da precisão intermediária empregou-se teste t de Student, com 95% de confiança.

#### 4.2.5.4 Exatidão

Assim como foi feito na avaliação da precisão, a exatidão para NAP compostos relacionados A e L, e NAP metil éster foi realizada em soluções amostras de comprimidos de naproxeno sódico fortificadas e para o NAP Na<sup>+</sup> em soluções placebo de comprimidos fortificadas com concentrações conhecidas de NAP Na<sup>+</sup>, considerando em ambas os níveis 40% (baixo), 100% (médio) e 120% (alto) da concentração de trabalho.

As amostras foram preparadas como descrito no item 4.2.5.3, pesando-se as massas descritas nas **Tabela 11** e **12**. O parâmetro utilizado para avaliar a exatidão foi a recuperação.

#### 4.2.5.5 Robustez

O teste de Youden foi empregado para a avaliar a robustez do método desenvolvido. Para esta avaliação foram selecionados 4 parâmetros combinados em 8 experimentos. Os parâmetros analíticos utilizados e as variações estão descritas na **Tabela 13**.

**Tabela 13** - Variações utilizadas para a realização do teste de *Youden*.

Parâmetro		Condição nominal			Variação (+)	
A/a	Variação do pH da Solução B	A	7,0	a	7,2	
B/b	Temperatura inicial da coluna	B	40,0 °C	b	42,0 °C	
C/c	Fluxo da fase móvel	C	0,3 mL/min	c	0,4 mL/min	
D/d	Lote da Coluna	D	Lote 1	d	Lote 2	

Os quatro parâmetros e suas variações foram combinados em oito corridas analíticas. A **Tabela 14** apresenta a combinação fatorial dos parâmetros para o teste de *Youden*.

**Tabela 14** - Variáveis utilizadas nos experimentos de robustez para desenvolvimento do método indicativo de estabilidade para NAP.

Variáveis	Experimentos							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Variação do pH da Solução B	A	A	A	A	a	a	a	a
Temperatura inicial da coluna (°C)	7,0	7,0	7,0	7,0	7,2	7,2	7,2	7,2
Vazão da fase móvel (mL/min)	B	B	b	b	B	B	b	b
Coluna (D/d)	40,0	40,0	42,0	42,0	40,0	40,0	42,0	42,0
	C	c	C	c	C	c	C	c
	0,3	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4	0,3	0,4
	D	D	d	d	d	d	D	D
	Lote 1	Lote 1	Lote 2	Lote 2	Lote 2	Lote 2	Lote 1	Lote 1
Resultado	s	t	u	v	w	x	y	z

Em cada combinação, foram realizadas três injeções, sendo uma da solução padrão de NAP Na<sup>+</sup> a 2,0 µg/mL, uma da amostra de comprimido de naproxeno sódico fortificada com NAP compostos relacionados A e L e NAP metil éster na concentração de 2,0 µg/mL (conforme descrito no item 4.2.5.3) e uma do placebo de comprimido de naproxeno sódico fortificada com concentrações conhecidas de NAP Na<sup>+</sup>. Para cada mudança de experimento, foram aguardados 15 minutos para a estabilização do



sistema. Os resultados avaliados em cada combinação foram a porcentagem de recuperação de NAP Na<sup>+</sup>, NAP compostos relacionados A e L e NAP metil éster; tempo de retenção para o NAP Na<sup>+</sup>; assimetria e pratos teóricos.

#### 4.2.5.6 Limite de quantificação

O limite de quantificação foi estimado com base na relação sinal ruído (S/N) da solução, sendo essa de, no mínimo, 10:1.

Para essa avaliação, preparou-se solução padrão de NAP, NAP composto relacionado A e L, e NAP metil éster na concentração de 2,0 µg/mL. Injetou-se no cromatógrafo líquido de ultra eficiência e avaliou-se a relação sinal ruído (S/N). Confirmou-se o limite de quantificação teórico injetando-se as amostras que foram preparadas como descrito no item 4.2.5.3, pesando-se as massas descritas na **Tabela 11 e 12**.

#### 4.2.6 *Estudo da interação entre fármaco e excipientes*

##### 4.2.6.1 Estudo de degradação forçada com misturas binárias em condição de temperatura e umidade

Esse estudo consistiu na avaliação da compatibilidade de misturas binárias na proporção de 1:1 do naproxeno sódico e seus excipientes. As misturas foram submetidas à exposição em câmara climática a 40 °C ± 2 °C com umidade relativa de 75,0%, por 30 dias.

Primeiramente, pesou-se 100 mg de cada excipiente (celulose microcristalina, croscarmelose sódica, dióxido de silício, estearato de magnésio, lactose, polietilenoglicol, polivinilpirrolidona, opadry) e 100 mg de NAP Na<sup>+</sup> IFA e misturou-se em gral. Dessas amostras obtidas, pesou-se quantidade de pó equivalente a 50,0 mg de NAP Na<sup>+</sup> e acondicionou-se em placa de Petri, colocadas abertas em câmara climática com umidade relativa de 75%, sendo armazenadas nessa condição por 30

dias. Decorrido o tempo de exposição, as amostras foram transferidas para balão volumétrico de 50,0 mL, com auxílio de 20,0 mL de diluente e em seguida foram sonicadas por 10 minutos. Os balões foram aferidos com o diluente e homogeneizados. A solução foi filtrada com filtro de seringa de 0,20 µm e transferida para vial. E analisadas nas mesmas condições descritas no item 4.2.4.

#### 4.2.6.2 Estudos de compatibilidade entre o naproxeno sódico e os excipientes utilizando análise térmica

Em paralelo ao estudo de degradação forçada por meio de análises cromatográficas, foi realizado estudo de compatibilidade por meio de análises térmicas.

Todas as misturas foram feitas na proporção de 1:1 (p/p) de NAP Na<sup>+</sup> IFA e cada excipiente. O material foi misturado com auxílio de almofariz e pistilo. Após o preparo das misturas, cada uma delas foi fracionada em duas amostras, sendo a primeira fração denominada de T0, utilizada para a coleta de dados no tempo 0 (zero) e a segunda denominada T30, utilizada para a coleta de dados após 30 (trinta) dias. As amostras T30 foram acondicionadas em câmara de estabilidade à temperatura de 40 °C e umidade relativa de 75%.

As curvas DSC foram realizadas em duplicata, em equipamento da marca TA Instruments – Waters LLC, modelo DSC-Q2000, utilizando-se cadinho de alumínio com tampa selada e com furo, na faixa de temperatura de 25,0 a 350,0 °C, com uma taxa de aquecimento de 10,0 °C/min e sob fluxo de nitrogênio a 50,0 mL/min.

As curvas TGA foram realizadas em duplicata, em equipamento da TA Instruments – Waters LLC, modelo TGA-Q50, utilizando-se cadinhos de alumínio sem tampa, na faixa de temperatura de 25,0 a 350,0 °C, com taxa de aquecimento de 10,0 °C/min e sob fluxo de nitrogênio a 50,0 mL/min.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Determinação do peso médio

O peso médio dos 20 comprimidos de NAP Na<sup>+</sup> foi 831,54 mg, com variação mínima de - 2,20, e máxima de 1,16, estando todas as unidades dentro do limite de  $\pm 5,0\%$ , em relação ao peso médio, conforme pode ser visualizado na **Tabela 15**.

**Tabela 15** - Resultados obtidos no teste de determinação de peso dos comprimidos contendo NAP.

<b>Peso do comprimido de NAP (mg)</b>	<b>% em relação à média</b>	<b>Varição (%)</b>
827,70	99,54	-0,46
836,30	100,57	+0,57
837,00	100,66	+0,66
834,10	100,31	+0,31
838,80	100,87	+0,87
830,90	99,92	-0,08
831,00	99,94	-0,06
828,70	99,66	-0,34
841,20	101,16	+1,16
831,20	99,96	-0,04
829,10	99,71	-0,29
829,50	99,76	-0,24
828,30	99,61	-0,39
831,50	100,00	0,00
813,20	97,80	-2,20
828,50	99,64	-0,36
836,20	100,56	+0,56
837,10	100,67	+0,67
829,50	99,76	-0,24
830,90	99,92	-0,08
<b>Média - 831,54</b>		
<b>DPR (%) - 0,70</b>		

## 5.2 Determinação da solubilidade do NAP IFA

Testou-se a solubilidade do NAP Na<sup>+</sup> IFA em todos os agentes degradantes utilizados de forma a garantir a solubilidade do mesmo para a correta realização do teste. O teste também foi realizado em solventes orgânicos como possíveis cossolventes a serem utilizados, sendo esses descritos na **Tabela 16**.

**Tabela 16** - Resultado do teste de solubilidade para o NAP.

Solvente	Volume necessário para solubilizar 10 mg	Classificação
Água	Menos de 1 mL	Muito solúvel
Acetonitrila	Mais de 100 mL	Muito pouco solúvel
Ácido clorídrico 0,1 M	Mais de 100 mL	Muito pouco solúvel
Ácido clorídrico 5 M	Mais de 100 mL	Muito pouco solúvel
Hidróxido de sódio 0,1 M	Menos de 1 mL	Muito solúvel
Hidróxido de sódio 5 M	Menos de 1 mL	Muito solúvel
Metanol	Menos de 1 mL	Muito solúvel
Peróxido de hidrogênio 3% (v/v)	Menos de 1 mL	Muito solúvel

O NAP Na<sup>+</sup> IFA mostrou-se solúvel nos agentes degradantes utilizados, com exceção dos agentes ácidos, uma vez que em pHs ácidos prevalece a microespécie não ionizada (CHEMICALIZE, 2021). Dessa forma, nas condições de degradação ácidas foi necessária a utilização de metanol como cossolvente. O menor volume de metanol possível foi utilizado para solubilizar o NAP IFA e comprimidos.

## 5.3 Estudo de degradação forçada

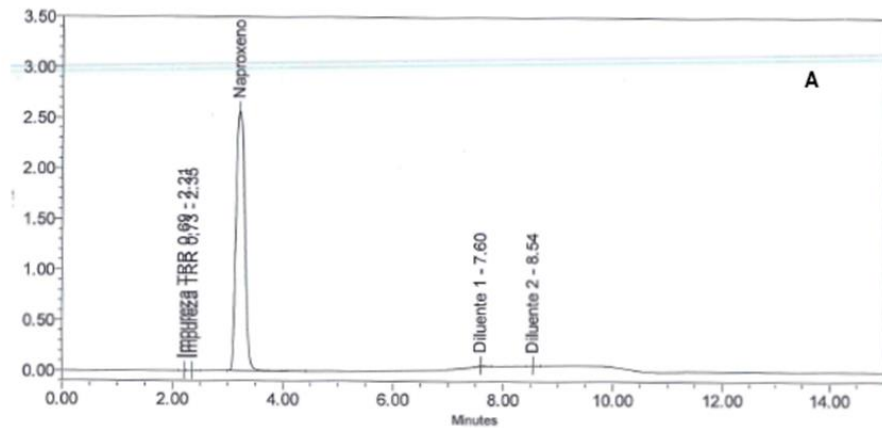
Foi avaliada a degradação forçada nas condições de *end point* do Guia TRS 929 da Organização Mundial de Saúde (**Tabela 3**), com o objetivo de se atingir uma degradação mínima de 10% do ativo, uma vez que, não havendo degradação nessas condições, o produto já seria considerado estável. As amostras de IFA, placebo e

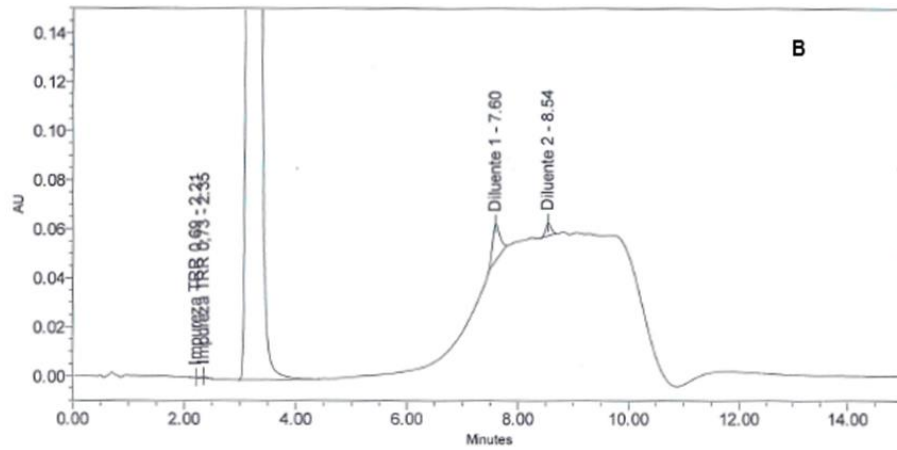
produto acabado também foram degradadas em condições alcalinas e ácida mais drásticas a fim de se comprovar a capacidade do método de quantificar impurezas de degradação.

### 5.3.1 Degradação em meio alcalino

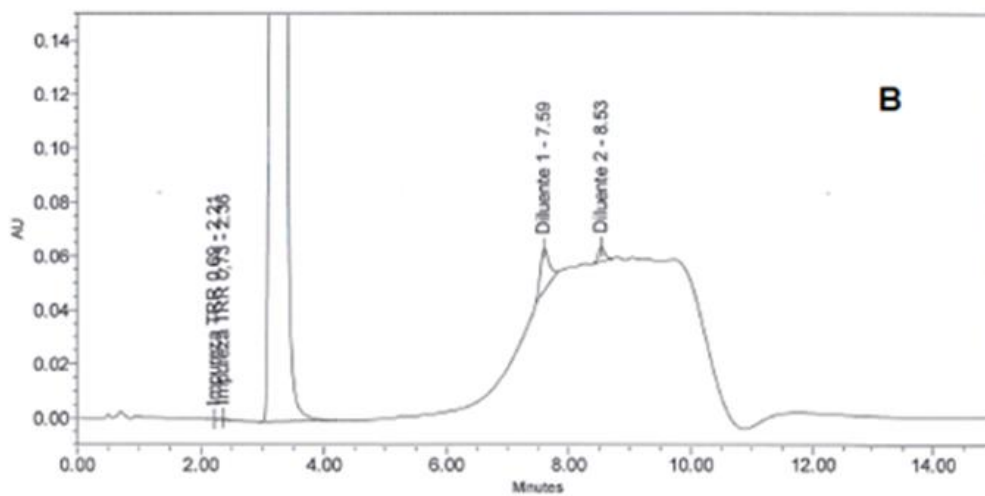
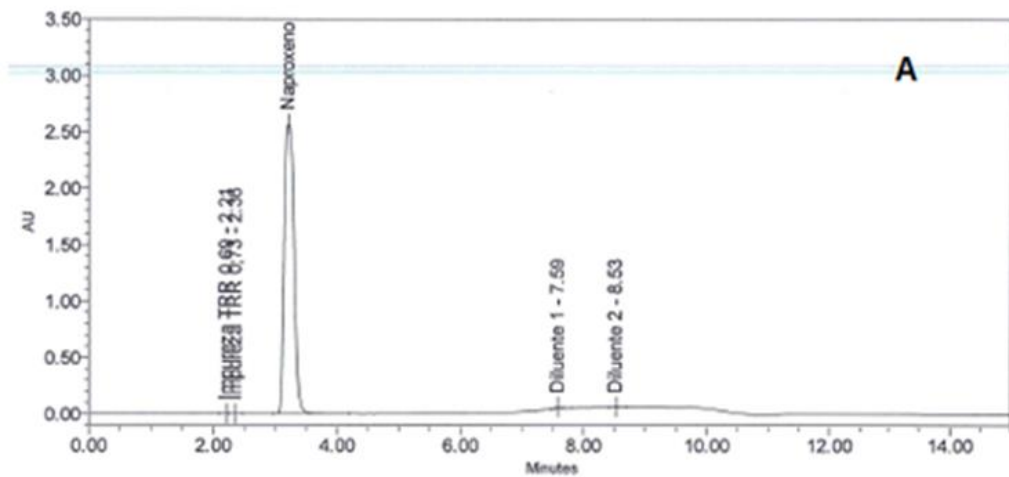
Iniciou-se o estudo de degradação forçada em meio alcalino para NAP IFA, comprimidos e placebo, com solução de NaOH 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias. O IFA apresentou recuperação de 102,5% e percentual de impurezas de 0,02%. Já para os comprimidos houve recuperação de 102,0% para o fármaco e 0,94% de impurezas. Os cromatogramas representativos do IFA, comprimido e placebo estão demonstrados nas **Figuras 3, 4 e 5**, respectivamente.

**Figura 3** - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).

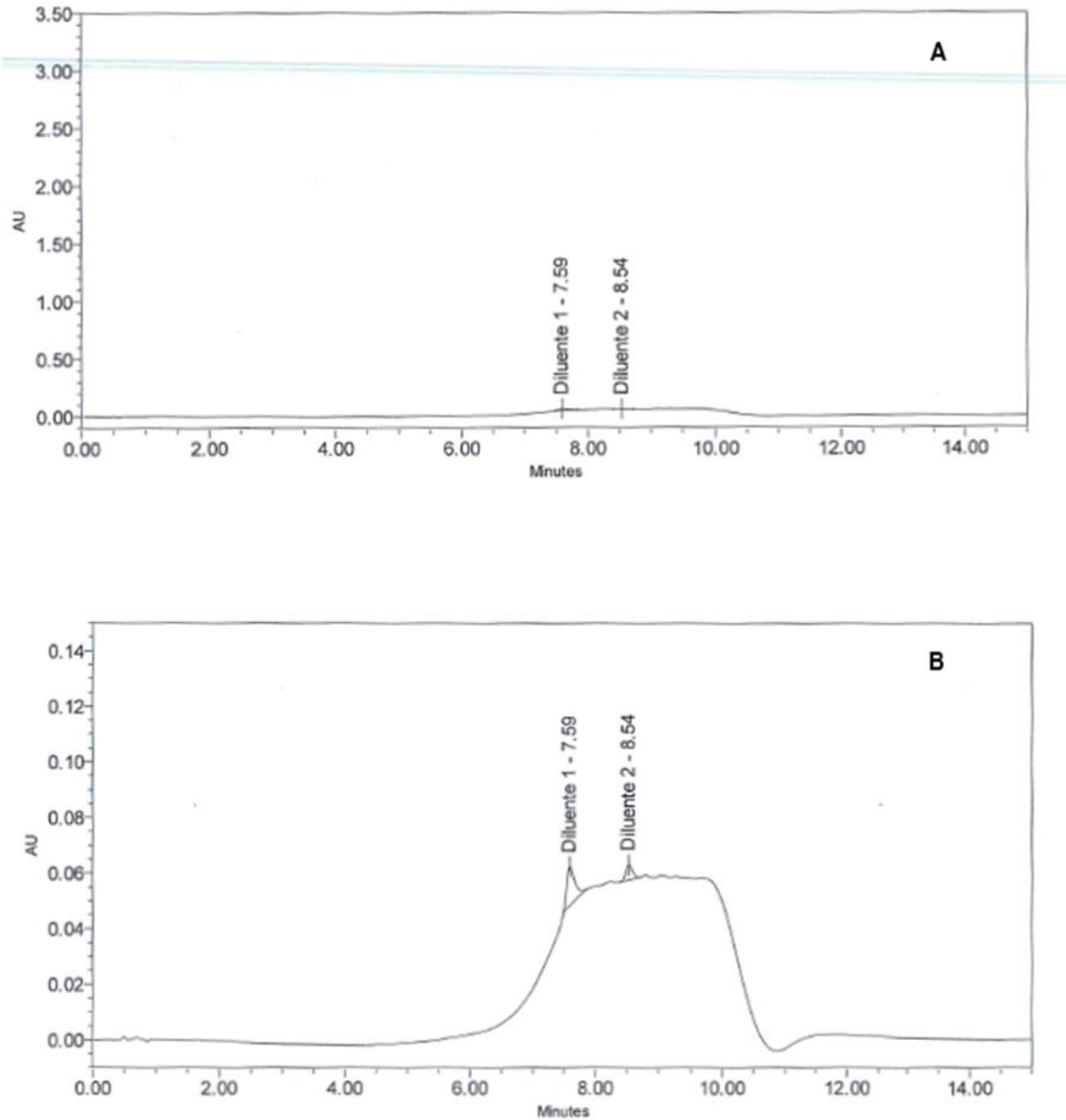




**Figura 4** - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).

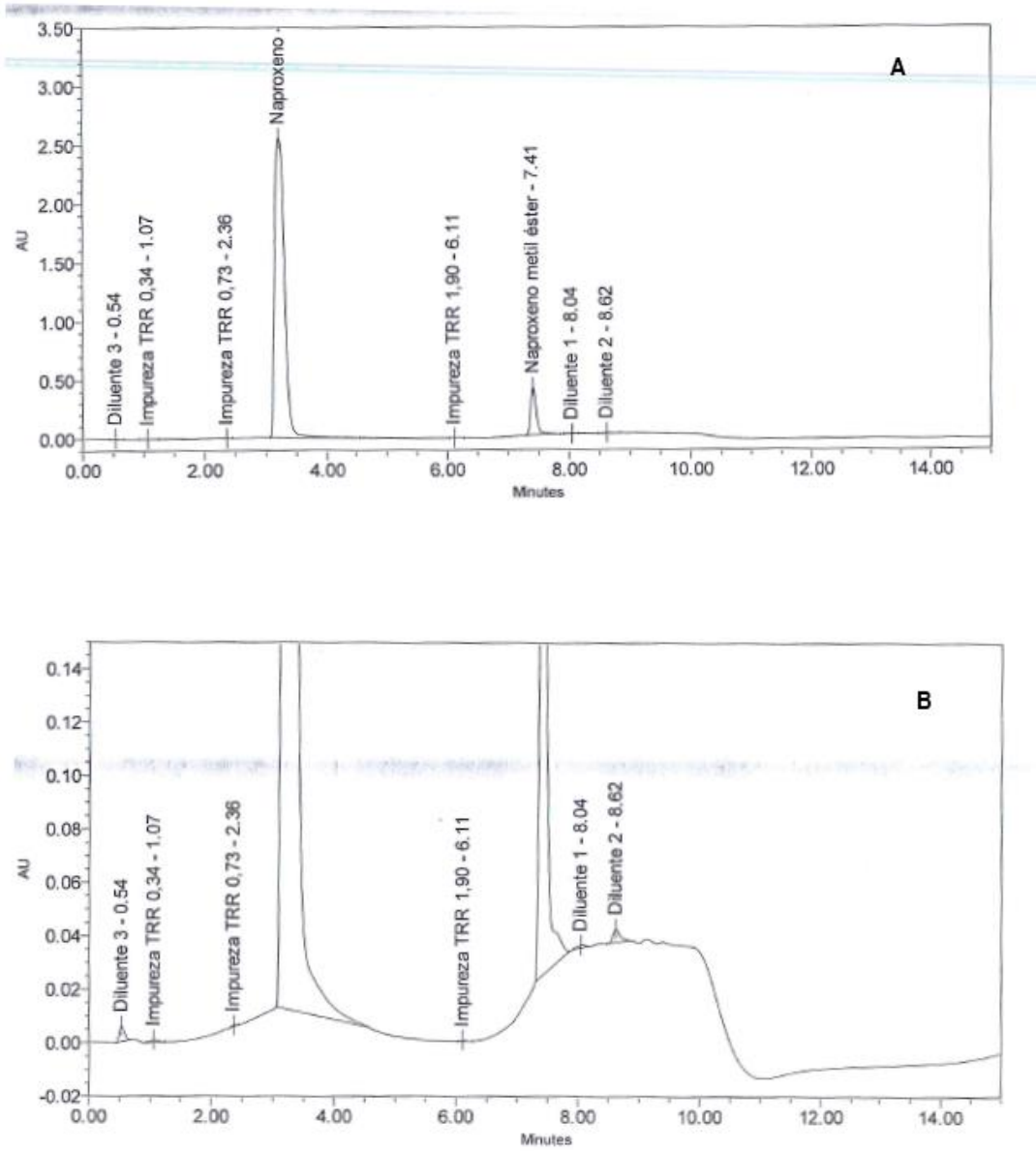


**Figura 5** - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de placebo sem zoom (A) e com zoom (B).



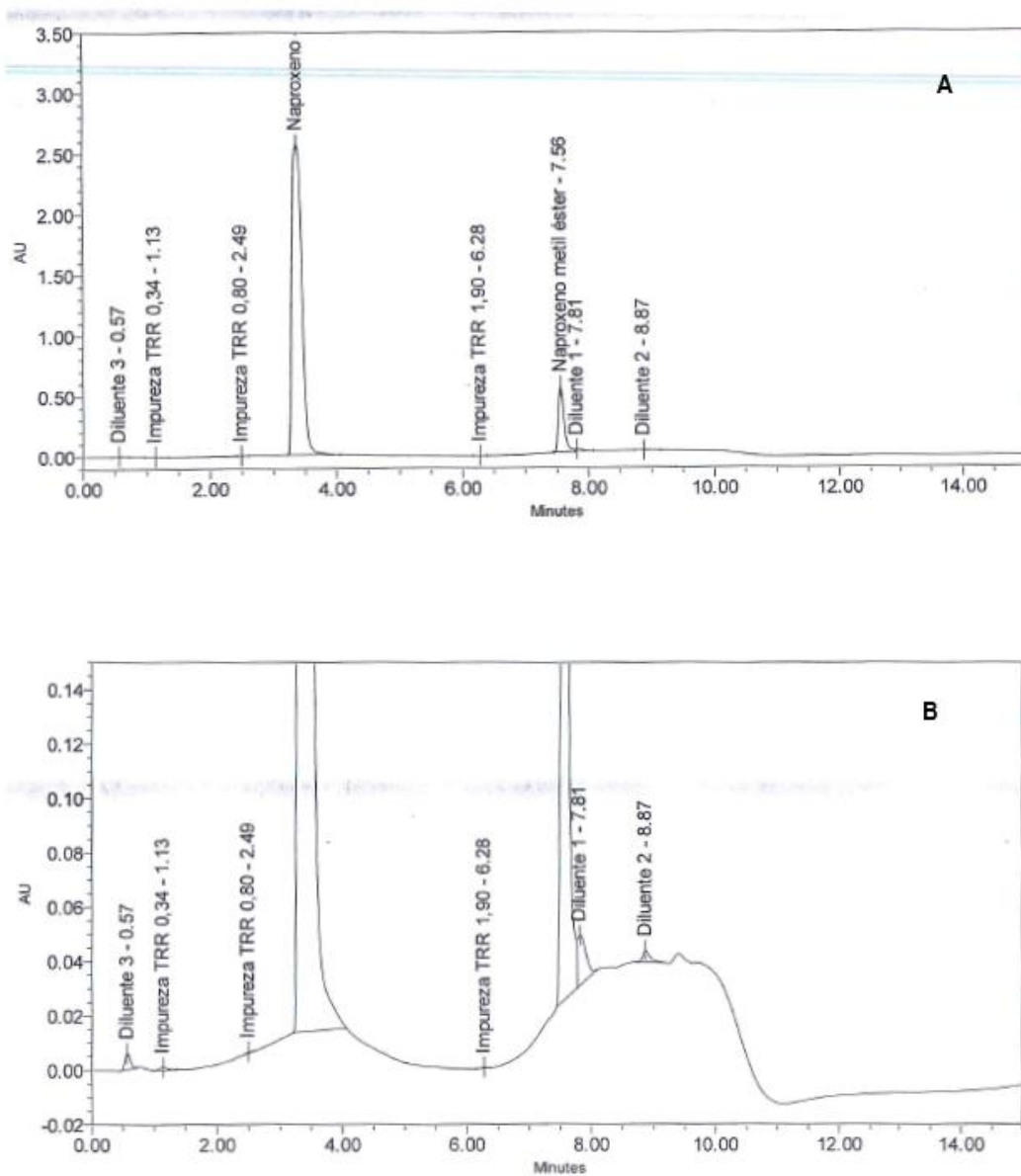
Não foi observada degradação significativa durante o tempo de 10 dias quando se empregou temperatura ambiente. Com o objetivo de se comprovar a capacidade do método de quantificar impurezas de degradação, as amostras foram expostas a uma concentração de NaOH 5 M à 60°C por 96 horas. Nesta condição, o IFA apresentou recuperação de 83,50% e percentual de impurezas de 9,77%. Nos comprimidos, a recuperação foi de 81,50% e 12,42% de impurezas. Os cromatogramas obtidos estão demonstrados nas **Figuras 6, 7 e 8**, para o IFA, comprimido e placebo, respectivamente.

**Figura 6** - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).

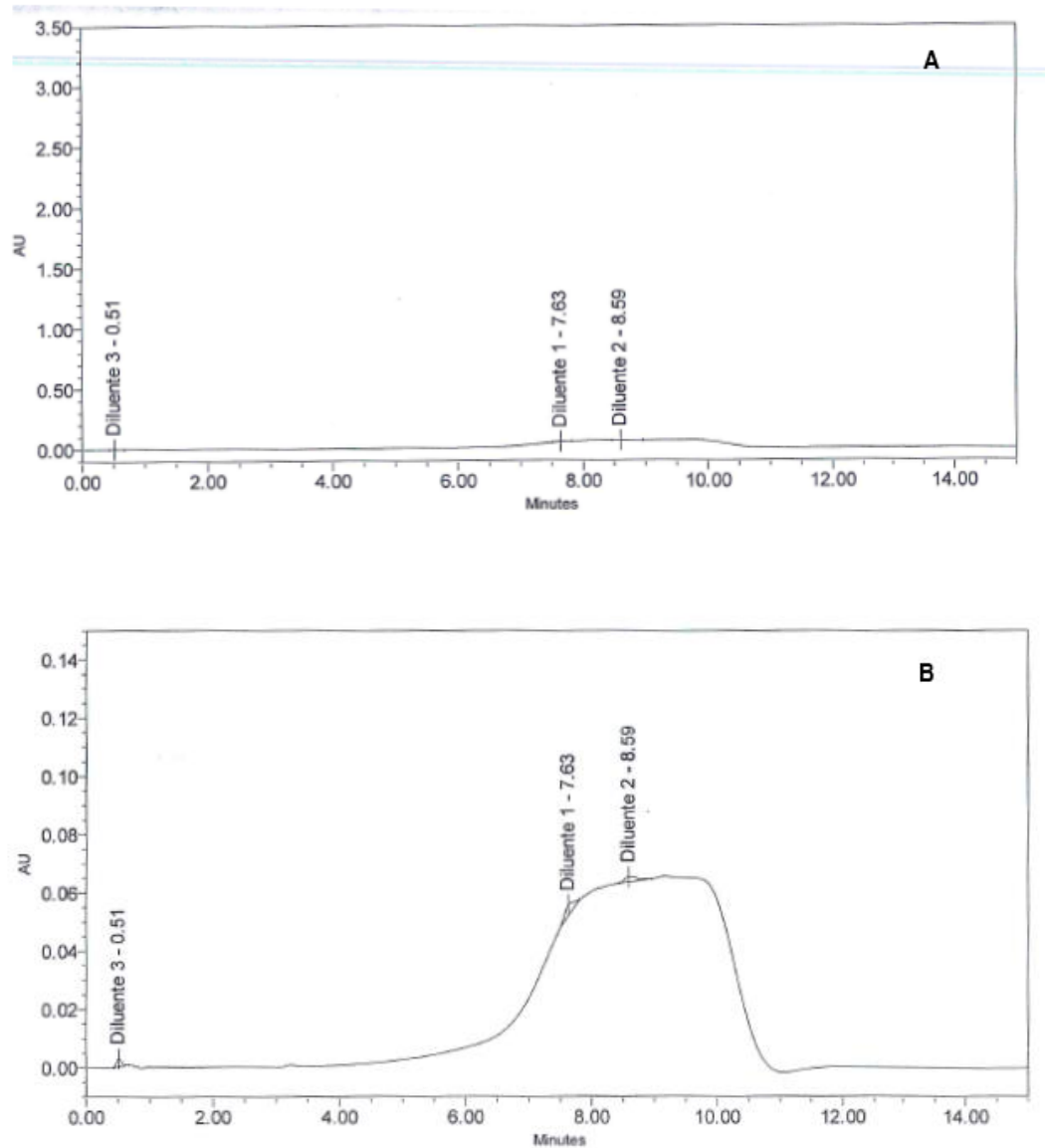




**Figura 7** - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).

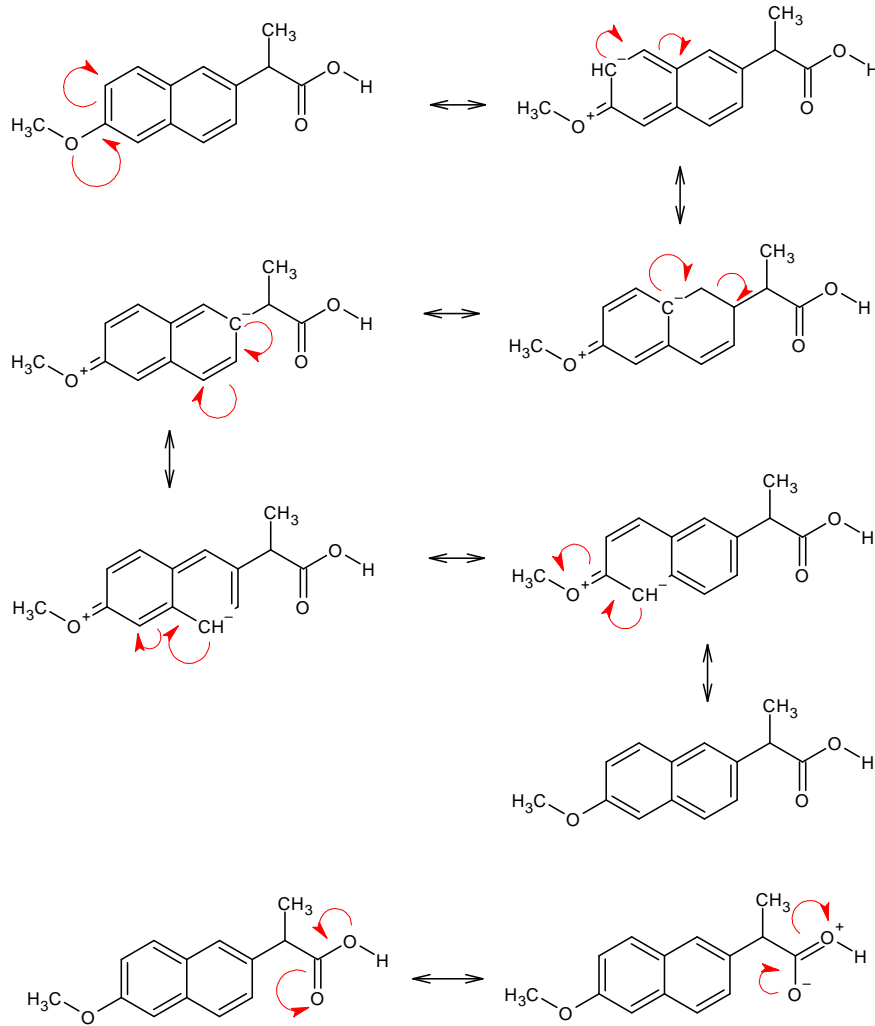


**Figura 8** - Cromatograma referente à degradação alcalina utilizando solução NaOH 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra de placebo sem zoom (A) e com zoom (B).



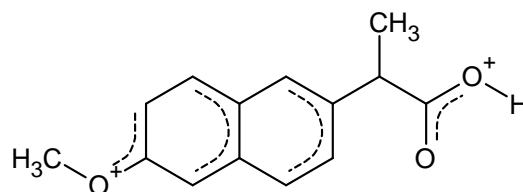
Analisando a estrutura química do NAP é possível concluir que a molécula possui elevada estabilidade, possivelmente devido à alternância de duplas ligações e presença de grupos doadores de elétrons, que possibilita a formação das estruturas de ressonâncias apresentadas na **Figura 9**.

**Figura 9 - Mecanismos de ressonância do naproxeno.**



Os mecanismos de ressonância apresentados na **Figura 9** são considerados para a predição do híbrido, representado na **Figura 10**. Devido à possibilidade da formação de diversas ressonâncias, é provável que a molécula seja pouco susceptível à degradação.

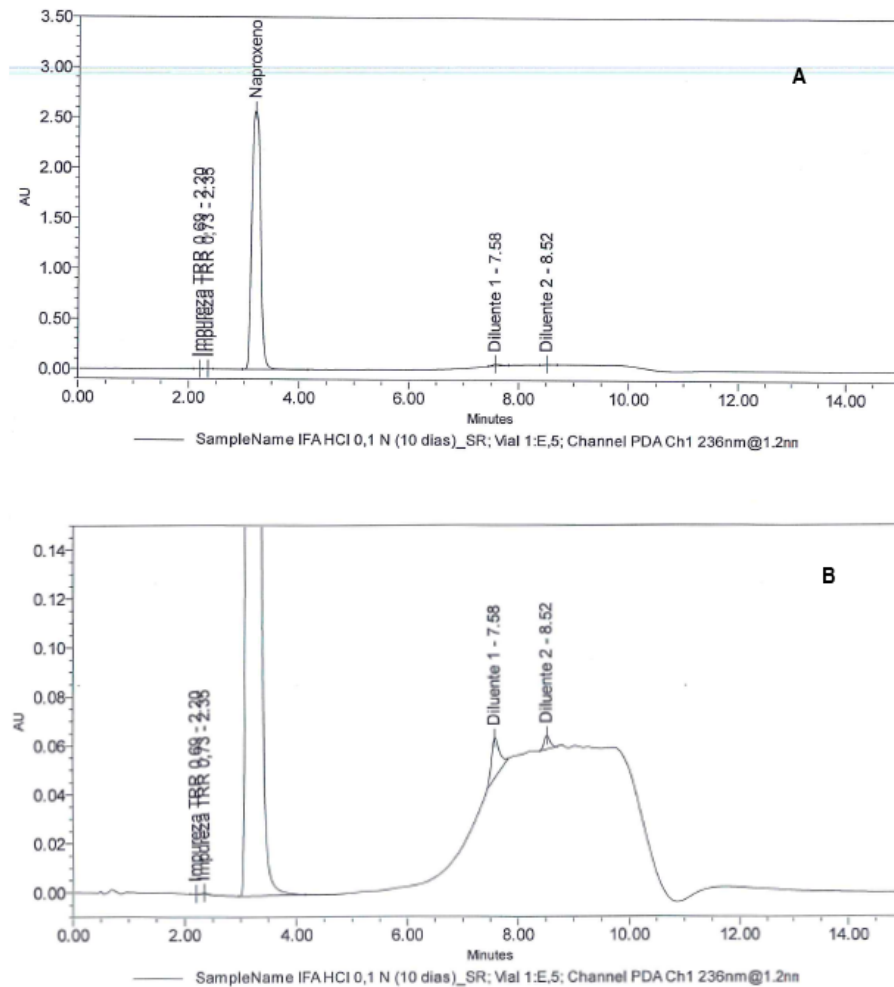
**Figura 10 - Híbrido de ressonância da molécula de naproxeno.**



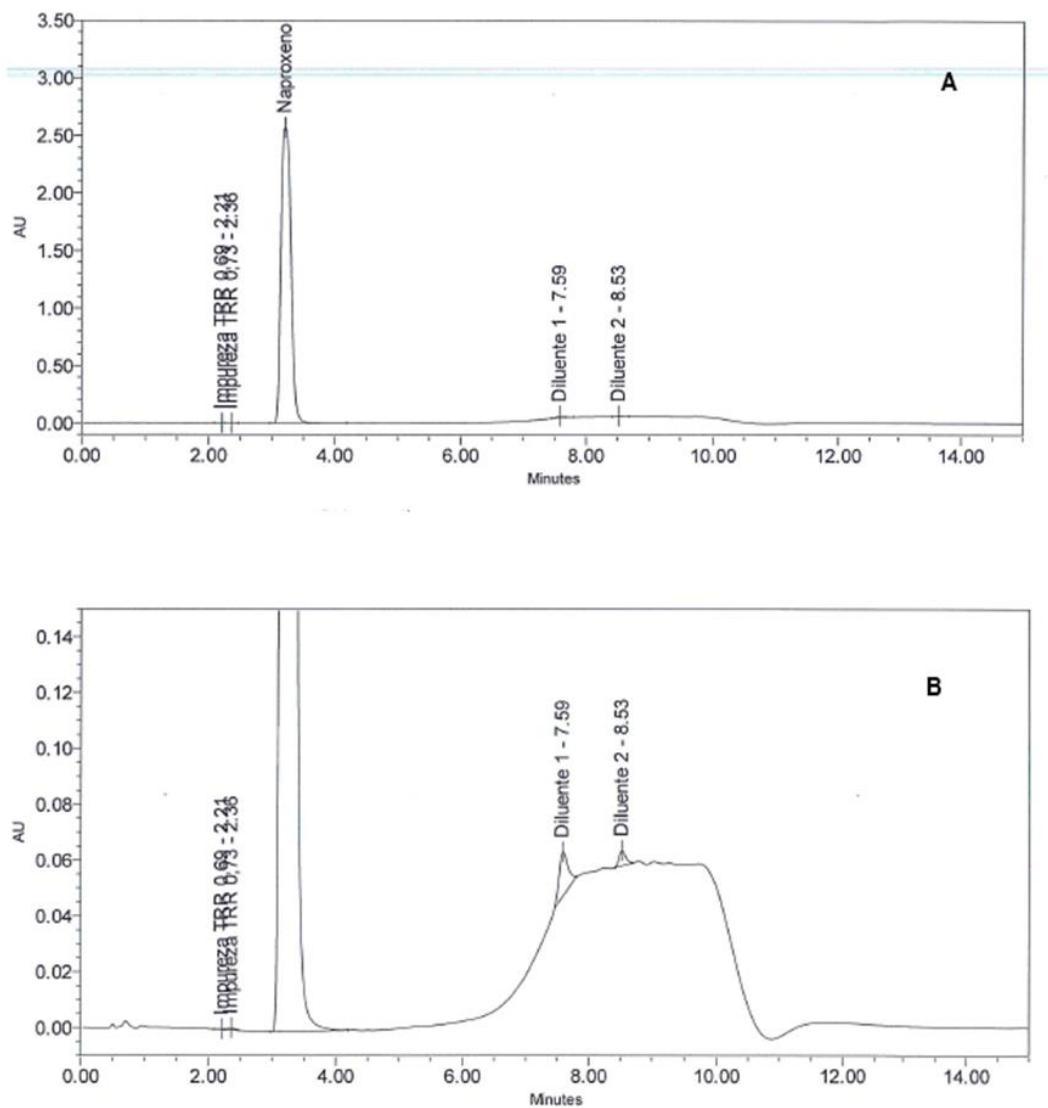
### 5.3.2 Degradação em meio ácido

Para os testes de hidrólise ácida realizados no NAP IFA, nos comprimidos e no placebo, empregando-se, inicialmente, solução de HCl 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias. Nessas condições, não foi observada a redução da área do pico de NAP, sendo a recuperação do IFA de 101,60% e o percentual de impurezas de 0,02%. Nos comprimidos, a recuperação do NAP foi de 101,40% e das impurezas de 0,02%. Os cromatogramas representativos do IFA, comprimido e placebo estão demonstrados nas **Figuras 11, 12 e 13**, respectivamente.

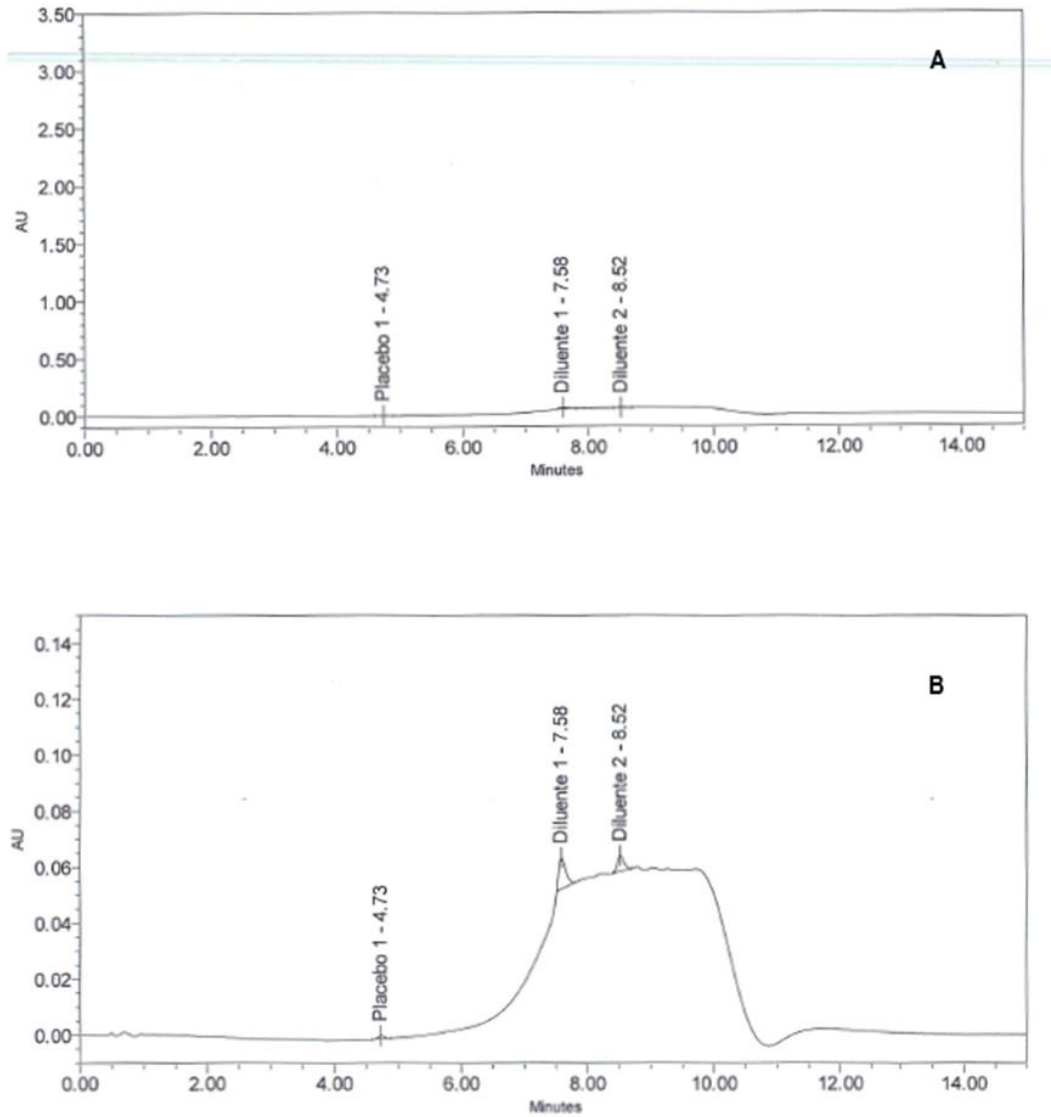
**Figura 11** - Cromatograma referente à degradação ácida utilizando solução HCl 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).



**Figura 12** - Cromatograma referente a degradação ácida utilizando solução HCl 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).

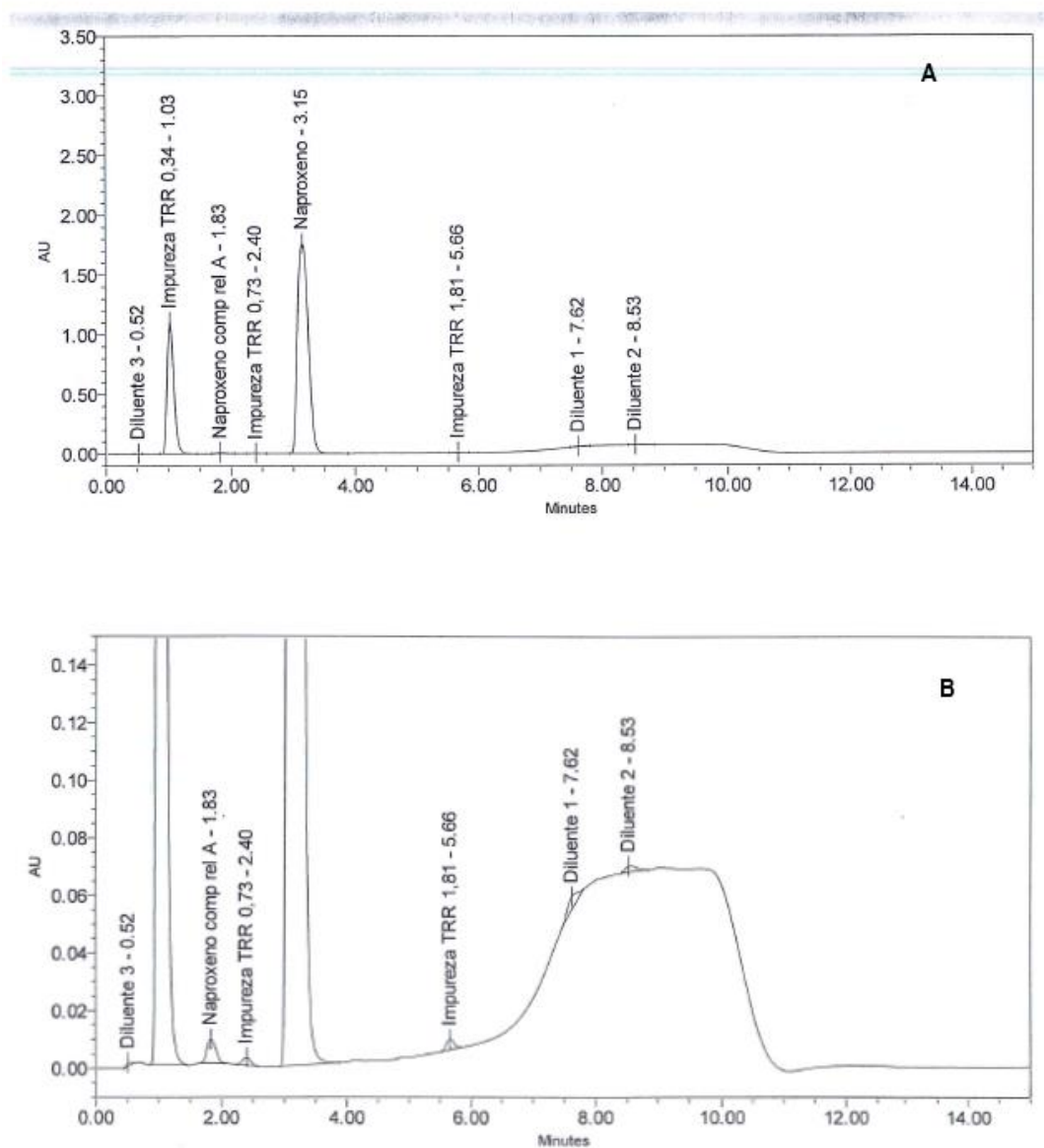


**Figura 13** - Cromatograma referente a degradação ácida utilizando solução HCl 0,1 M em temperatura ambiente por 10 dias na amostra de placebo, sem zoom (A) e com zoom (B).

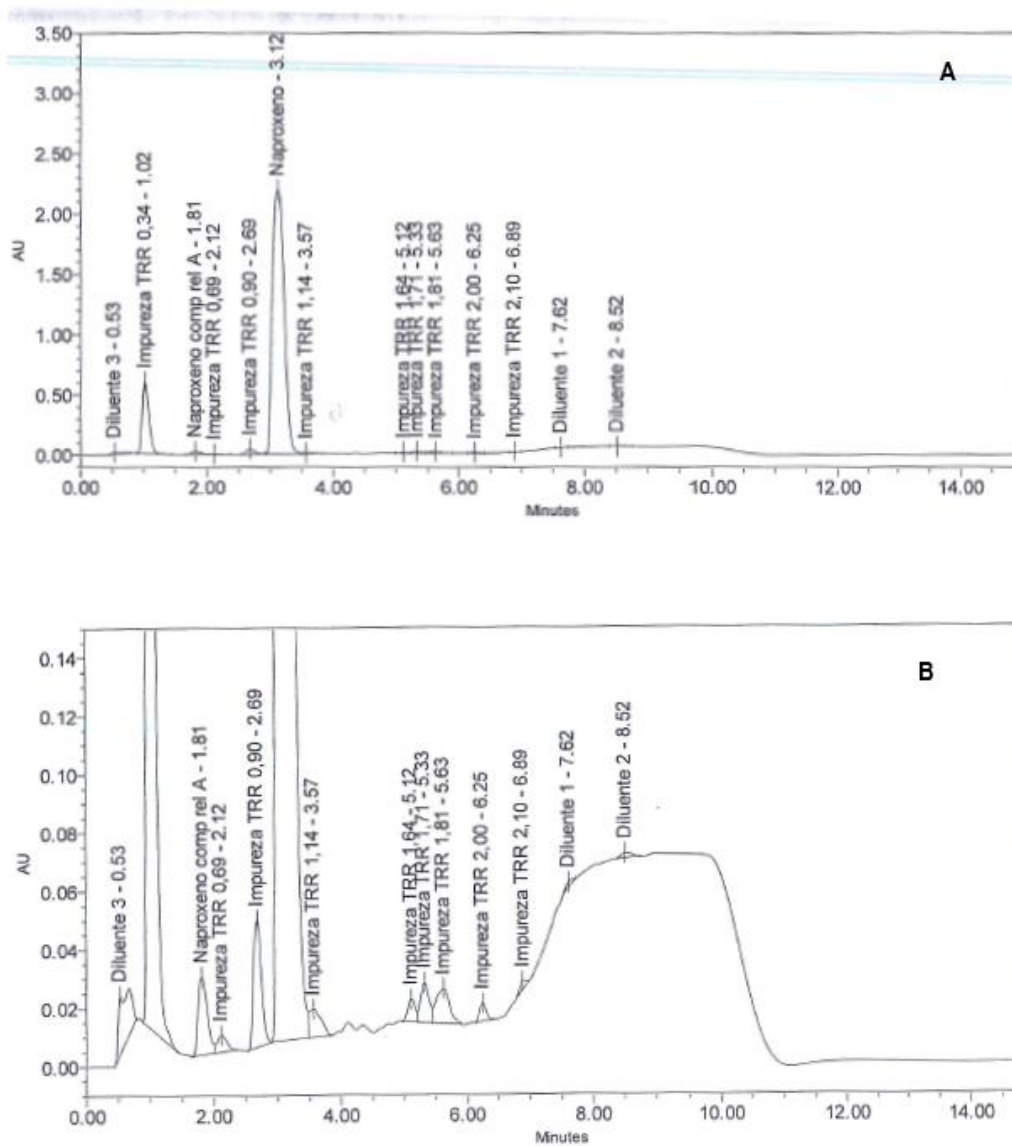


Posteriormente, condições mais drásticas foram empregadas. Aumentou-se a concentração da solução de HCl para 5 M e a temperatura para 60 °C durante 96 horas. Nesta condição, o IFA apresentou recuperação de 65,90% e o percentual de impurezas foi de 28,45%. Nos comprimidos, a recuperação de NAP foi de 85,00% e a de impurezas de 17,14%, provavelmente essa diferença de recuperação deve-se ao fato dos excipientes da formulação serem capazes de proteger o IFA da degradação no comprimido (ABRANTES, 2016). Os cromatogramas obtidos estão apresentados nas **Figuras 14, 15 e 16**, para o IFA, comprimido e placebo, respectivamente.

**Figura 14** - Cromatograma referente à degradação ácida utilizando solução HCl 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).

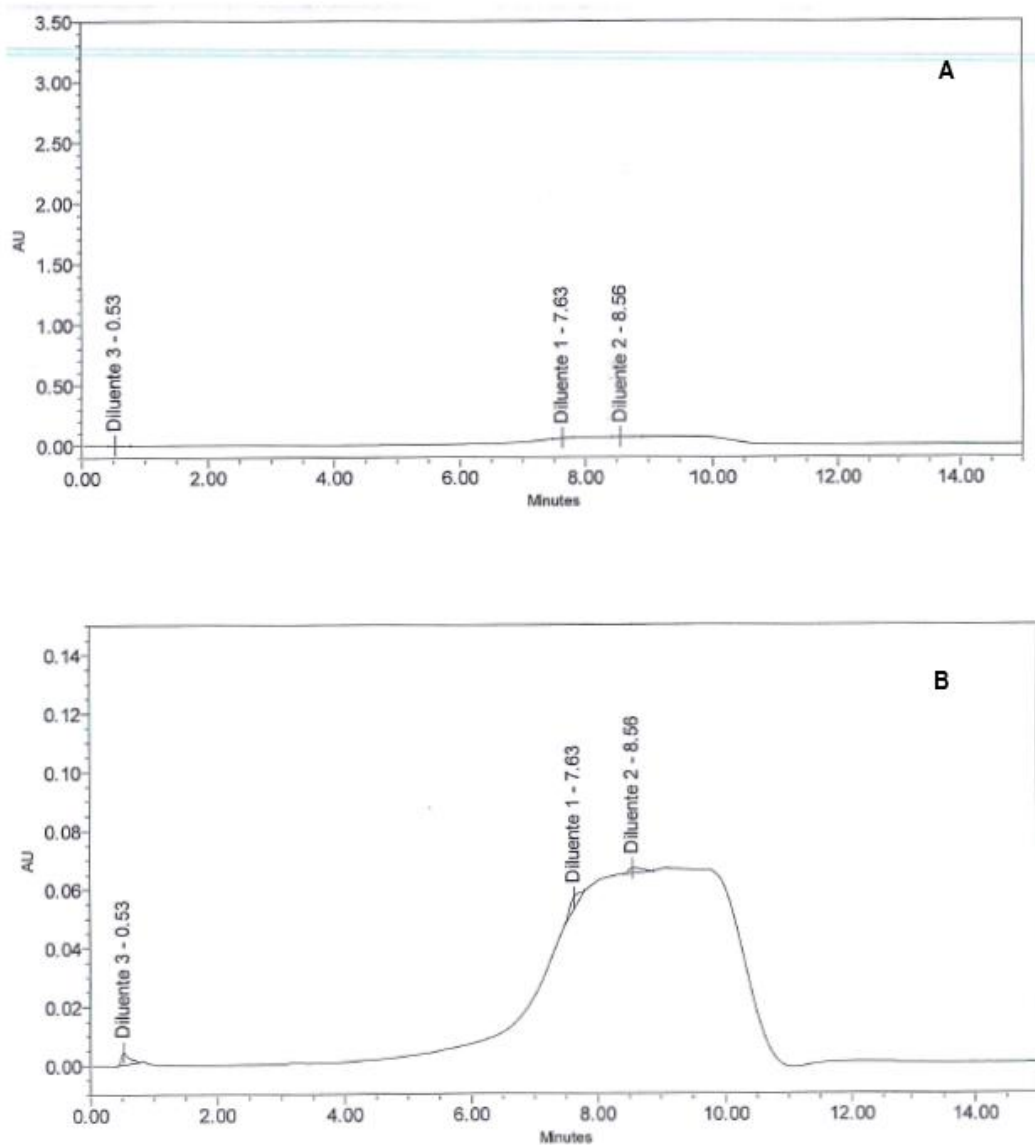


**Figura 15** - Cromatograma referente à degradação ácida utilizando solução HCl 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).





**Figura 16** - Cromatograma referente à degradação ácida utilizando solução HCl 5 M em temperatura de 60°C por 96 horas na amostra, sem zoom (A) e com zoom (B).

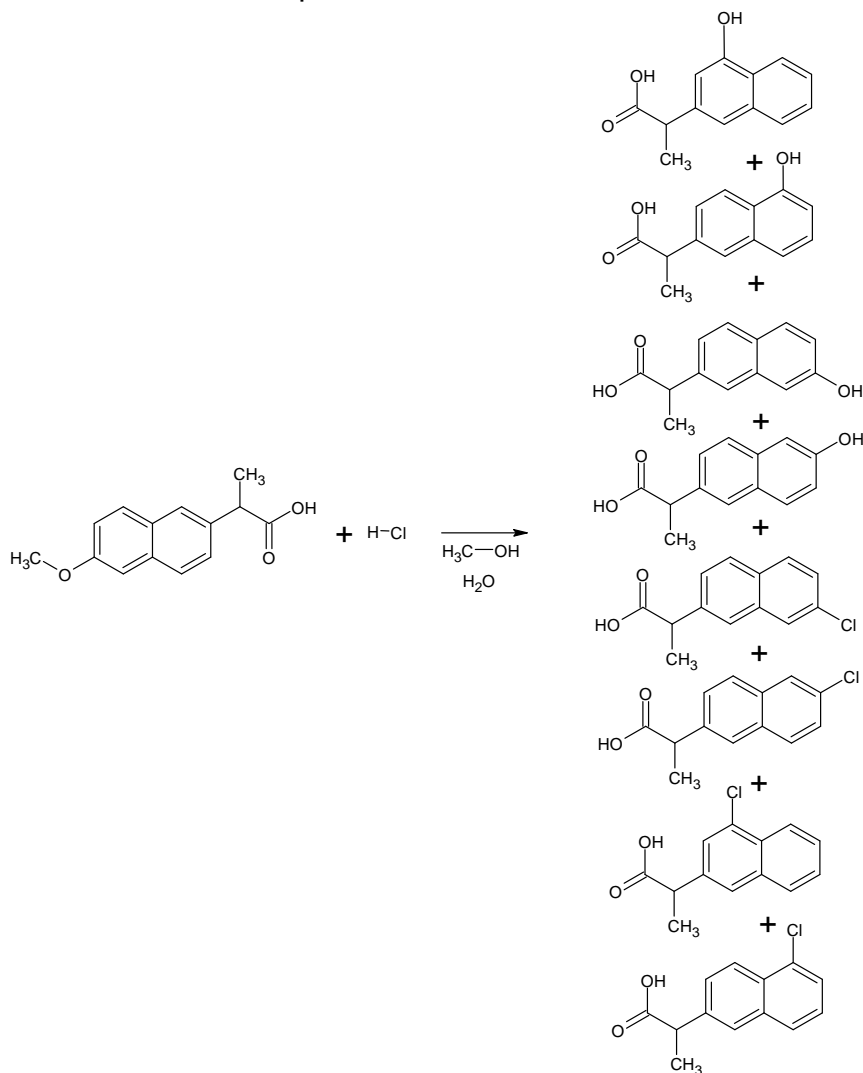


Como já discutido anteriormente, a molécula do NAP é estabilizada pelas ressonâncias possíveis em sua estrutura. Esse fenômeno também explica a estabilidade em meio ácido.

Entretanto, em condições mais drásticas, observou-se degradação. Uma explicação para esse resultado é que a presença de um grupamento éter na molécula de NAP favorece o processo de hidrólise quando exposto a condições ácidas. Uma vez que há a formação de um bom grupo abandonador como o metanol, e a estabilização da

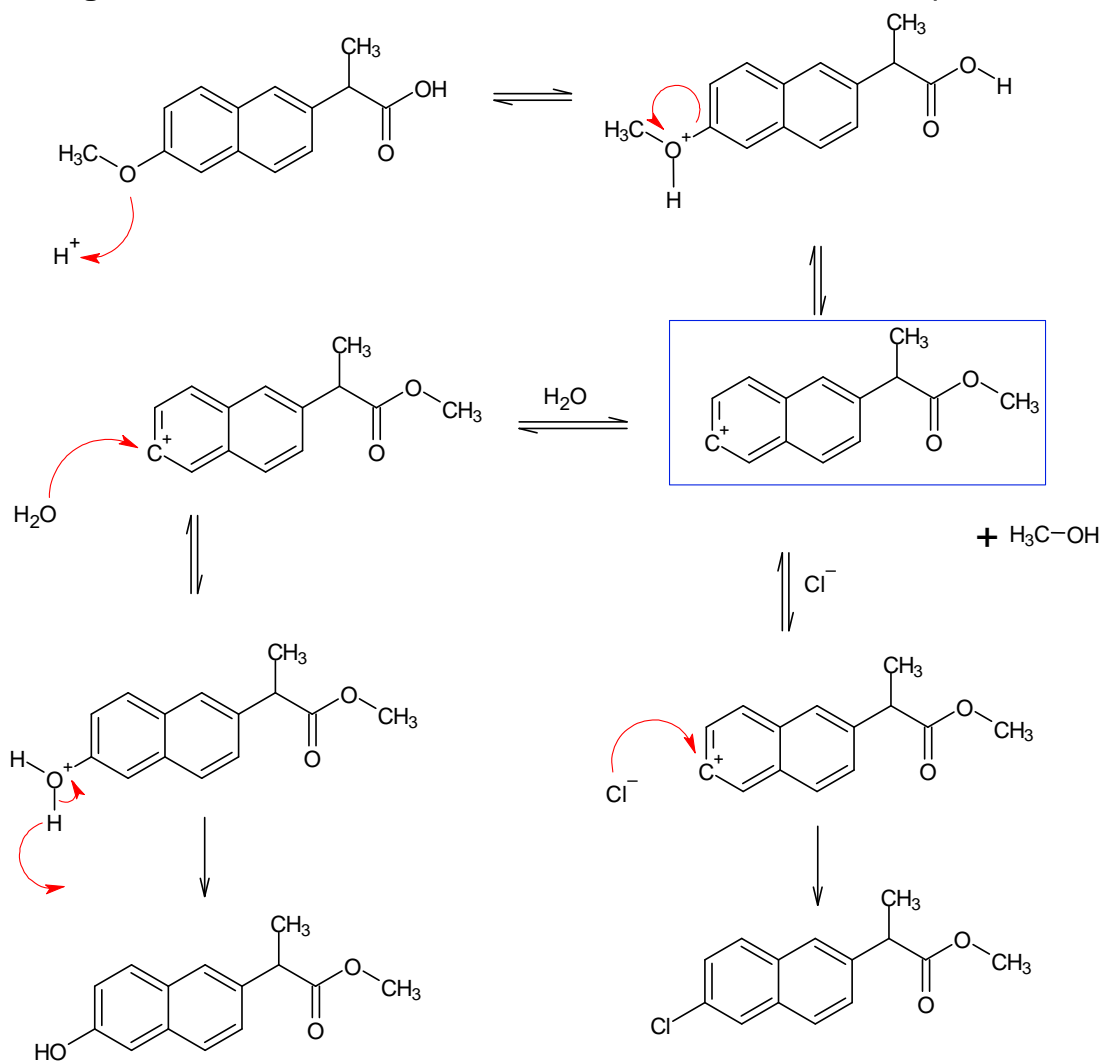
carga devido a ressonância, os produtos apresentados na **Figura 17** podem ser formados.

**Figura 17** - Reação de hidrólise ácida da molécula de naproxeno e possíveis produtos formados.

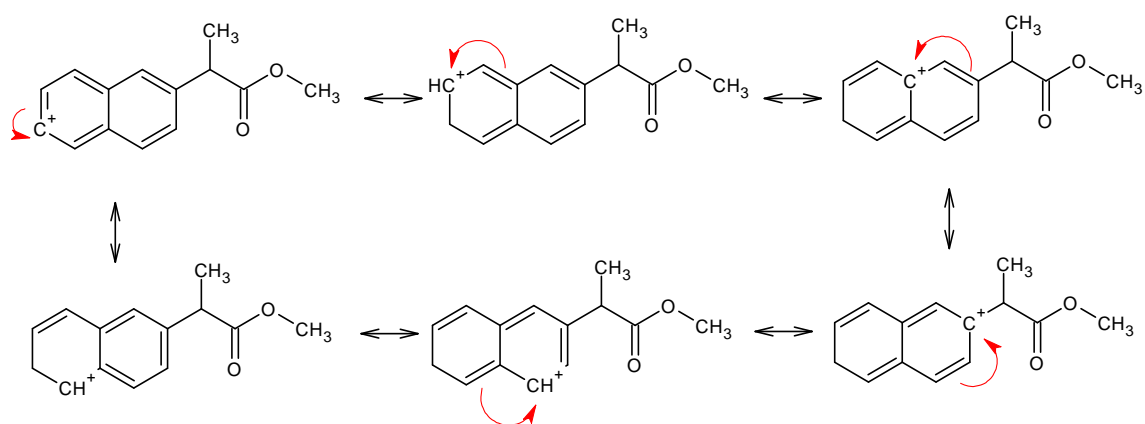


O mecanismo de formação dos prováveis produtos principais é apresentado na **Figura 18**. E por meio da **Figura 19**, é possível entender a formação dos demais. A ausência da nuvem eletrônica em um determinado momento no processo de ressonância possibilita o ataque de nucleófilos ao anel, promovendo uma reação de substituição.

**Figura 18 - Mecanismos de hidrólise ácida da molécula de naproxeno.**



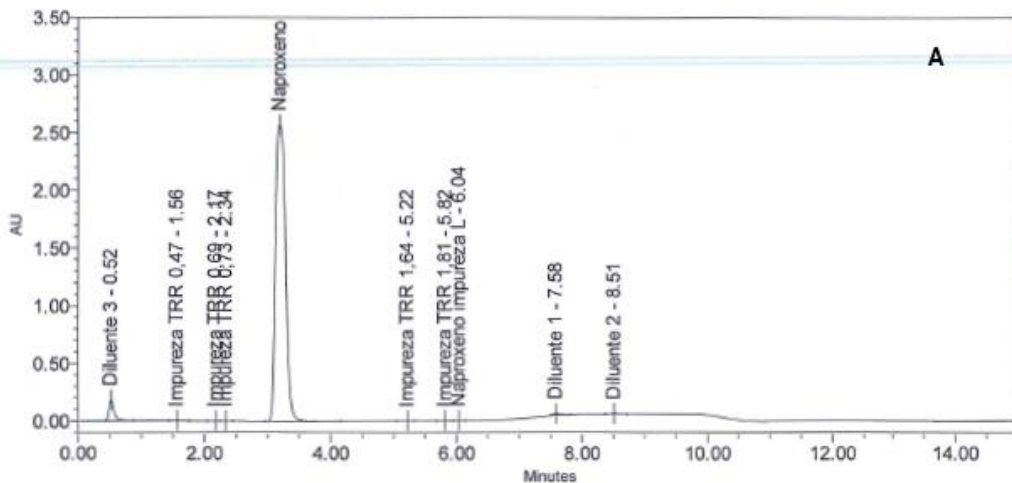
**Figura 19 – Mecanismo de estabilização da molécula de NAP.**

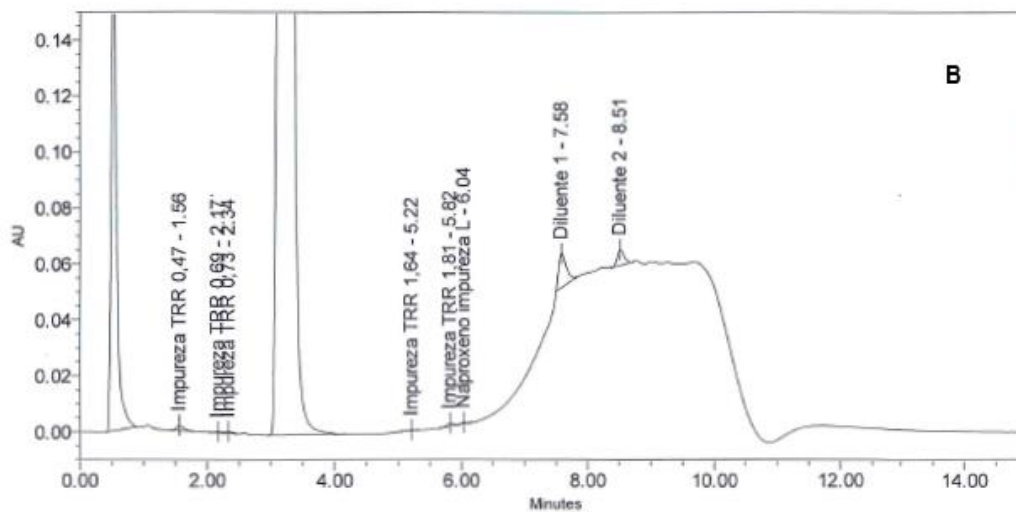


### 5.3.3 Degradação em meio oxidativo mediada por peróxido de hidrogênio

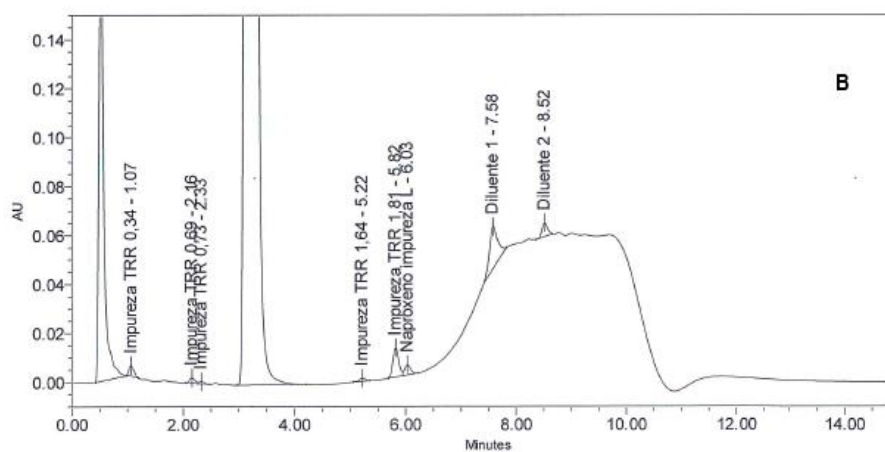
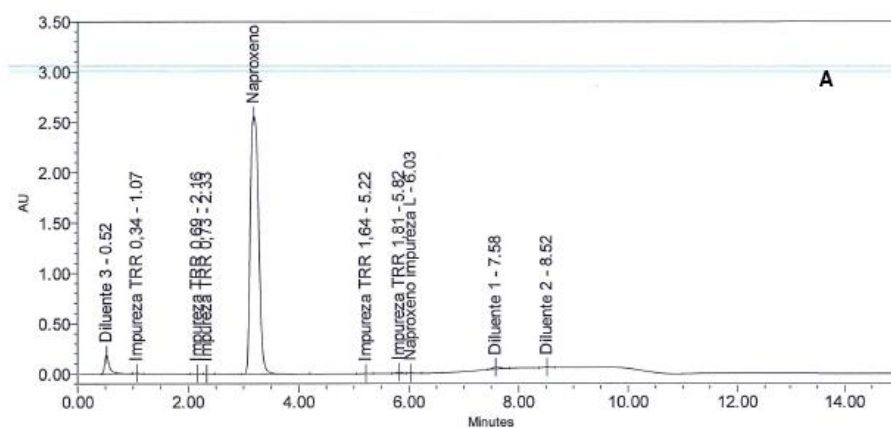
As amostras de NAP IFA, placebo e comprimidos submetidas à oxidação com peróxido de hidrogênio a 3,0% v/v por 10 dias, em temperatura ambiente, não apresentaram redução significativa do pico referente ao NAP. Nesta condição, o IFA apresentou recuperação de 100,30% e percentual de impurezas de 0,13%. Os comprimidos apresentaram recuperação para o NAP de 98,40% e 0,65% de impurezas. Os cromatogramas obtidos para o IFA, comprimido e placebo estão apresentados nas **Figuras 20, 21 e 22**, respectivamente.

**Figura 20** - Cromatograma referente à degradação em meio oxidativo utilizando solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3,0% por 10 dias na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).

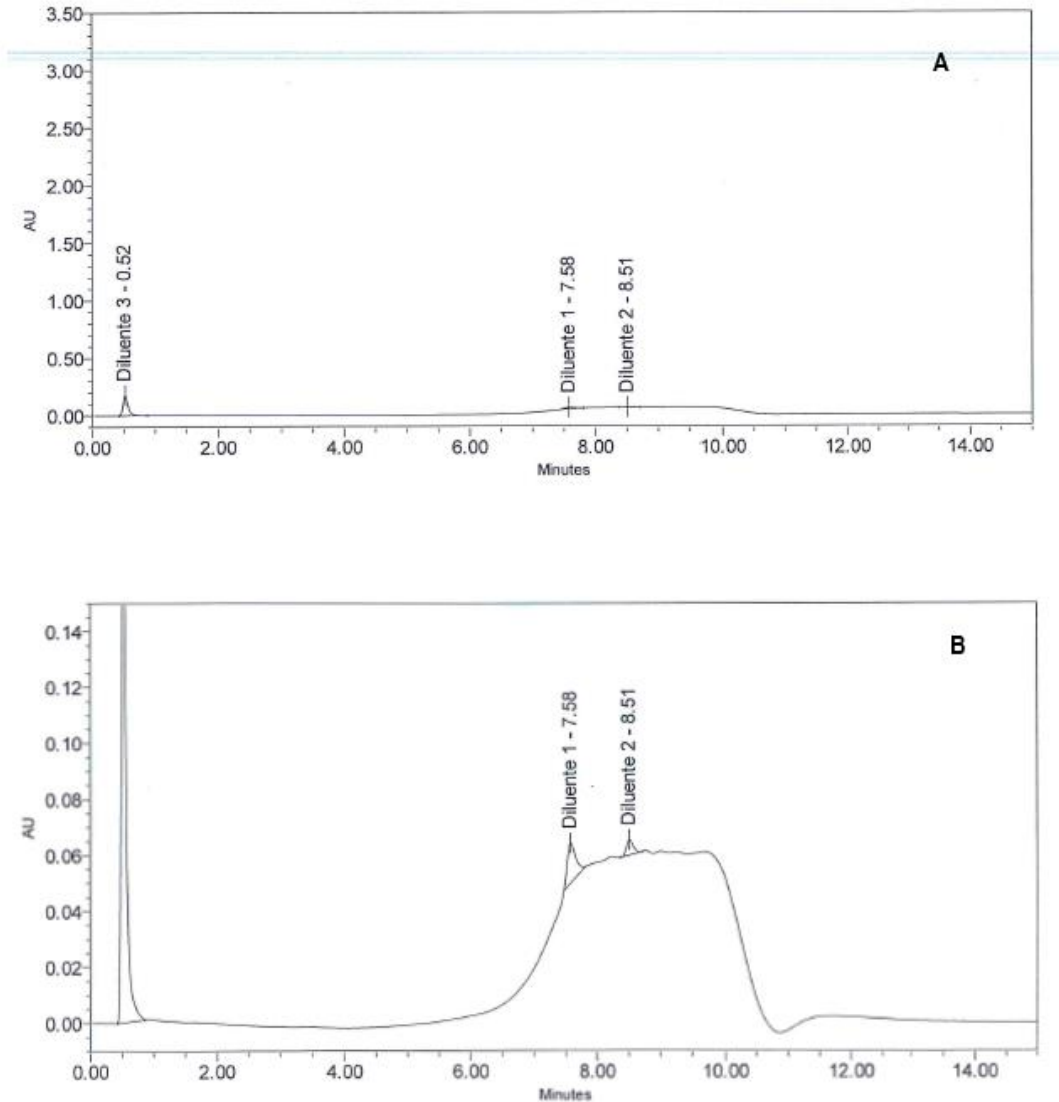




**Figura 21** - Cromatograma referente à degradação em meio oxidativo utilizando solução de  $H_2O_2$  3,0% por 10 dias na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).



**Figura 22** - Cromatograma referente à degradação em meio oxidativo utilizando solução de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3,0% por 10 dias na amostra de placebo, sem zoom (A) e com zoom (B).

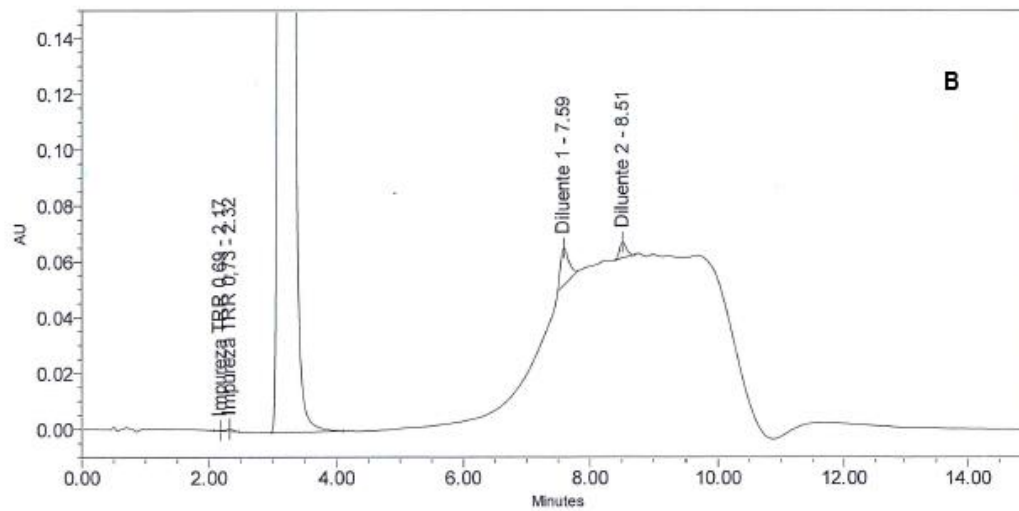
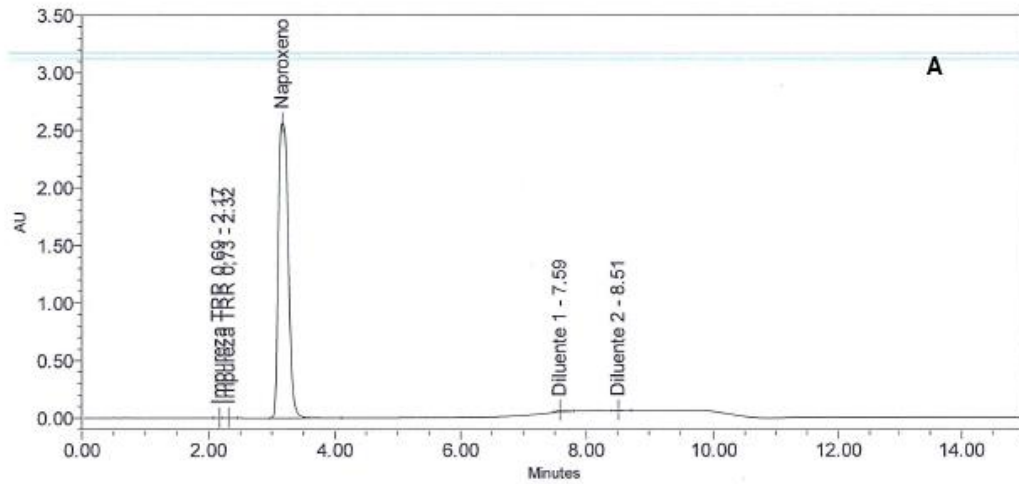


#### 5.3.4 Degradação úmida

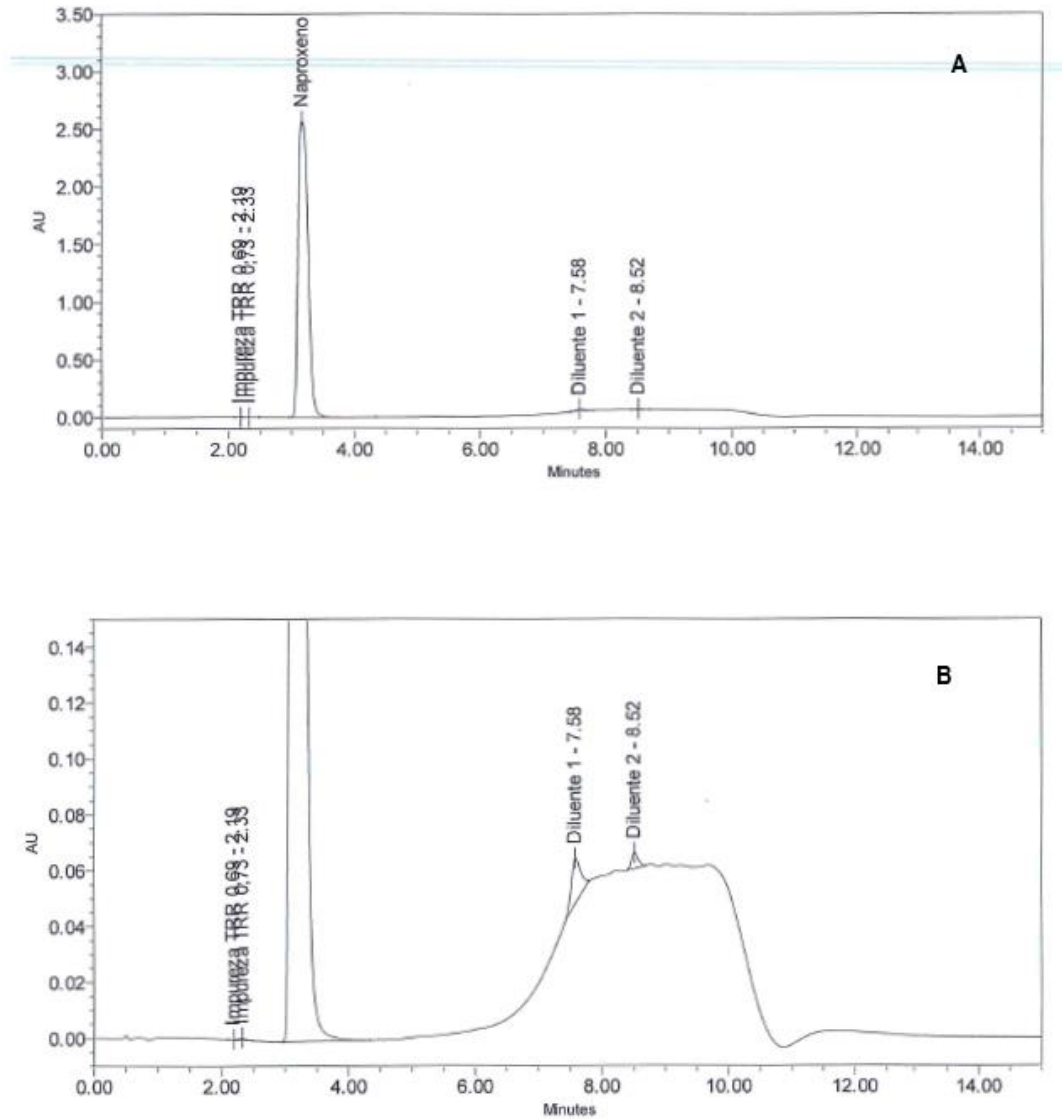
As amostras de NAP IFA, placebo e comprimidos submetidas à degradação por via úmida avaliadas na condição de 40 °C com 75% umidade relativa por 10 dias, não apresentaram redução significativa do pico de NAP. Nesta condição, o IFA apresentou recuperação de 101,50% e percentual de impurezas 0,02%. Os comprimidos, por sua vez, apresentaram recuperação de NAP de 101,00% e 0,02% de impurezas. Os

cromatogramas obtidos são apresentados nas **Figuras 23, 24 e 25**, para o IFA, comprimido e placebo, respectivamente.

**Figura 23** - Cromatograma referente à degradação úmida em câmara climática a 40 °C e 75% de umidade relativa por 10 dias na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).

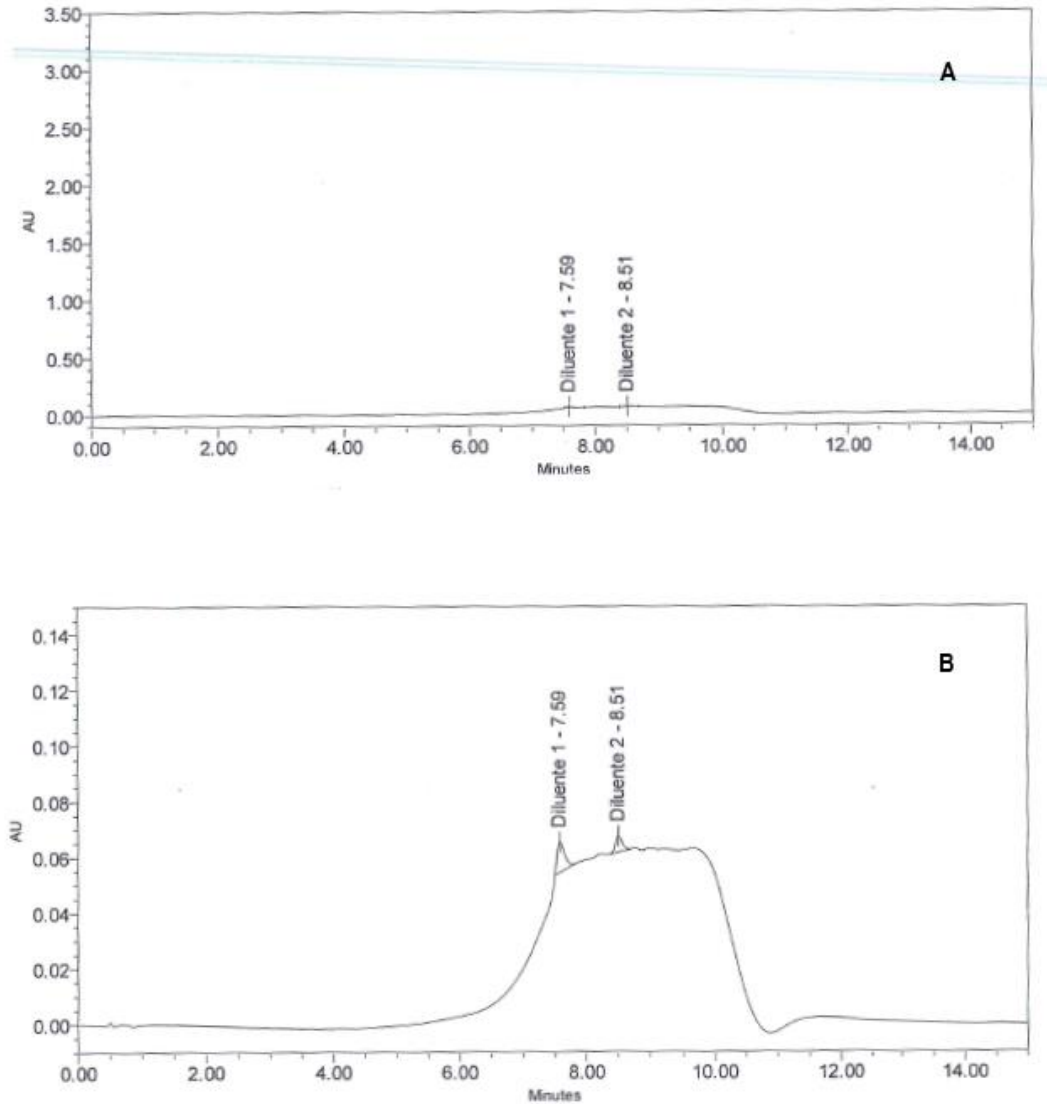


**Figura 24** - Cromatograma referente à degradação úmida em câmara climática a 40 °C e 75% de umidade relativa por 10 dias na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).





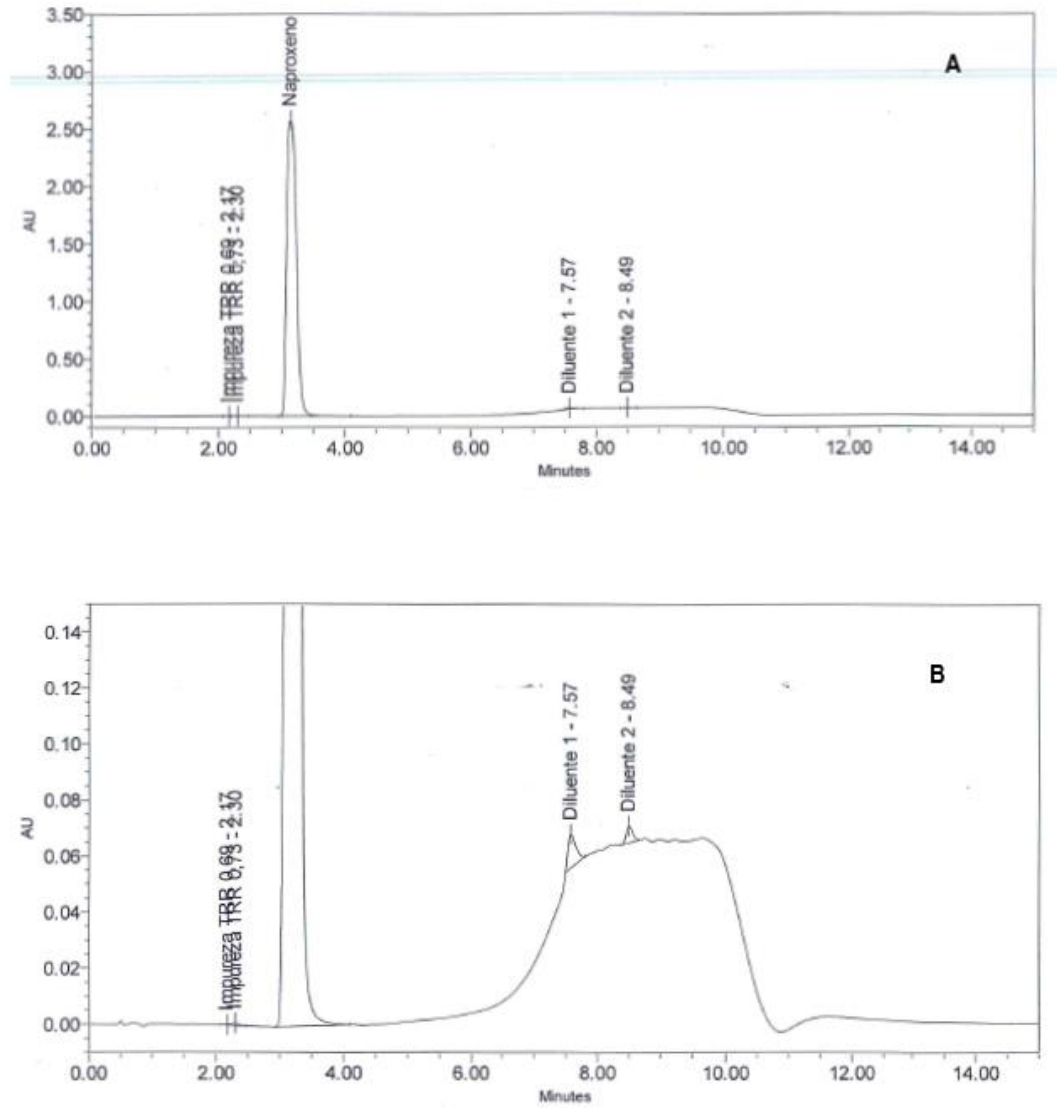
**Figura 25** - Cromatograma referente a degradação úmida em câmara climática a 40°C e 75% de umidade relativa por 10 dias na amostra de placebo, sem zoom (A) e com zoom (B).



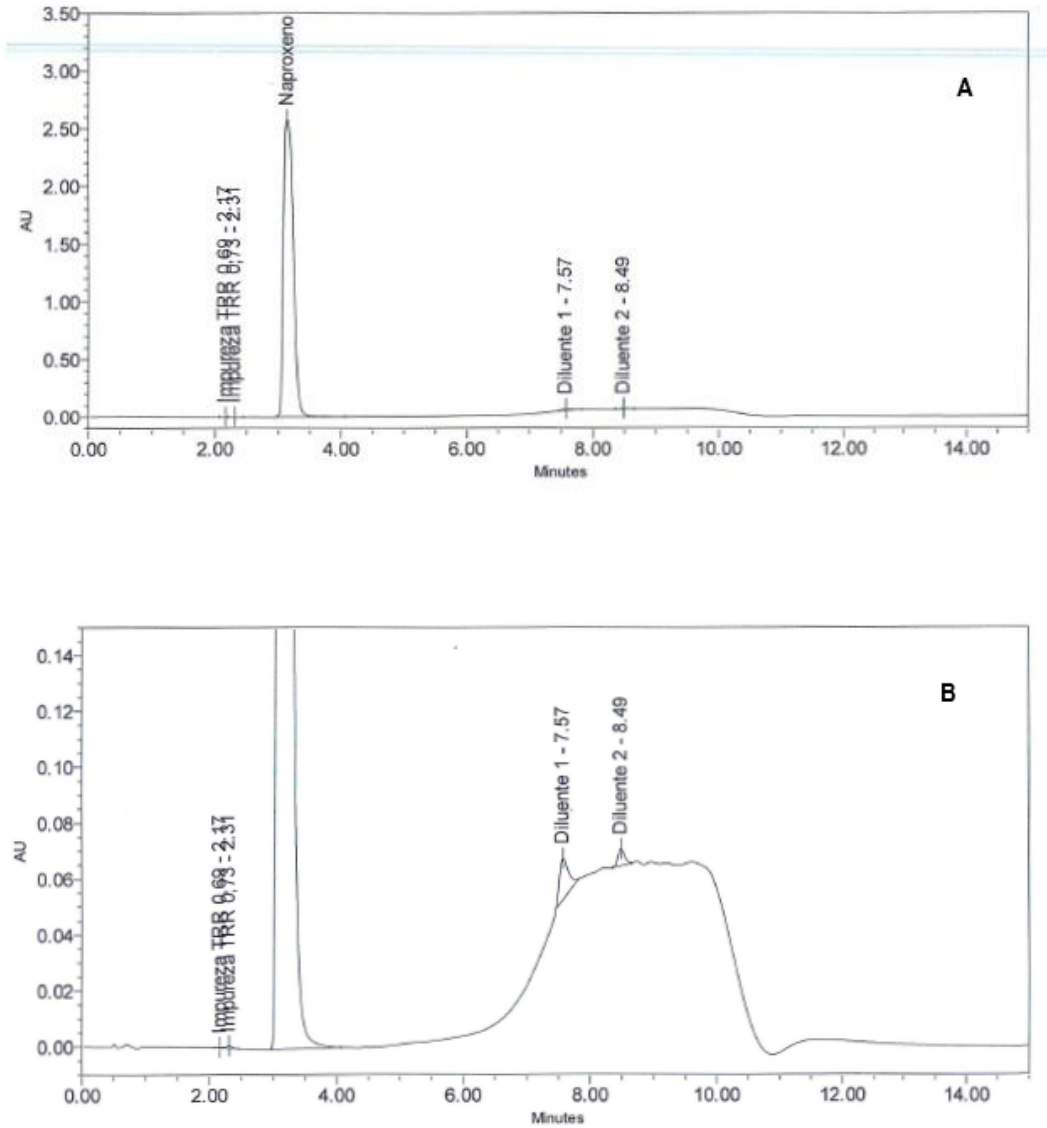
### 5.3.5 Degradação térmica

Para a avaliação da degradação térmica, as amostras de NAP IFA, placebo e comprimidos foram expostas à temperatura de 60 °C por 10 dias. Após os testes, não foi observada redução significativa do sinal relativo ao NAP. Nesta condição, o IFA apresentou recuperação de 100,80% e o percentual de impurezas foi de 0,03%; já os comprimidos apresentaram recuperação de 101,00% e 0,02% de impurezas. Os cromatogramas obtidos para o IFA, comprimido e placebo estão apresentados nas **Figuras 26, 27 e 28**, respectivamente.

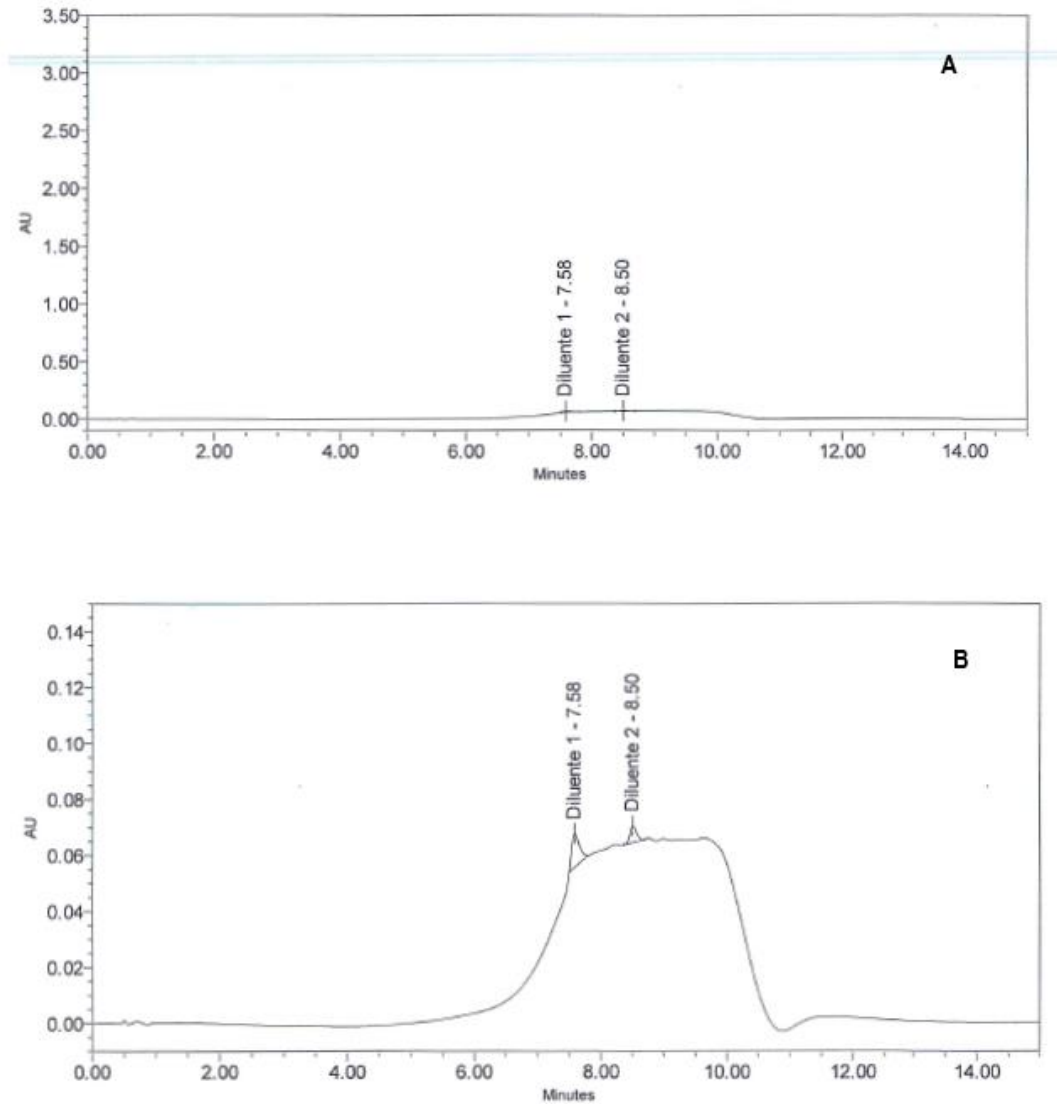
**Figura 26** - Cromatograma referente à degradação térmica a 60 °C por 10 dias na amostra de NAP IFA na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).



**Figura 27** - Cromatograma referente à degradação térmica a 60 °C por 10 dias na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).



**Figura 28** - Cromatograma referente à degradação térmica a 60 °C por 10 dias na amostra de placebo, sem zoom (A) e com zoom (B).

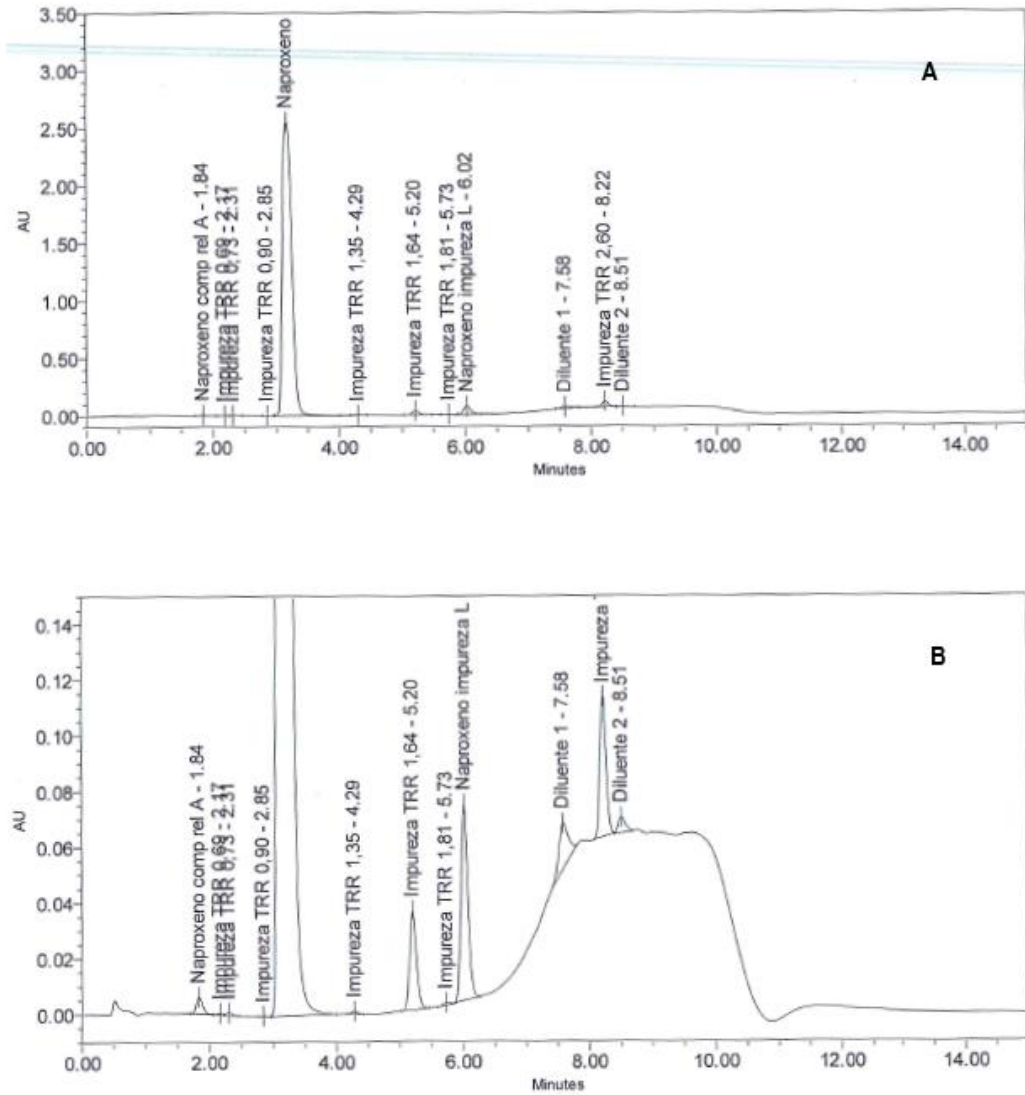


### 5.3.6 Degradação fotolítica

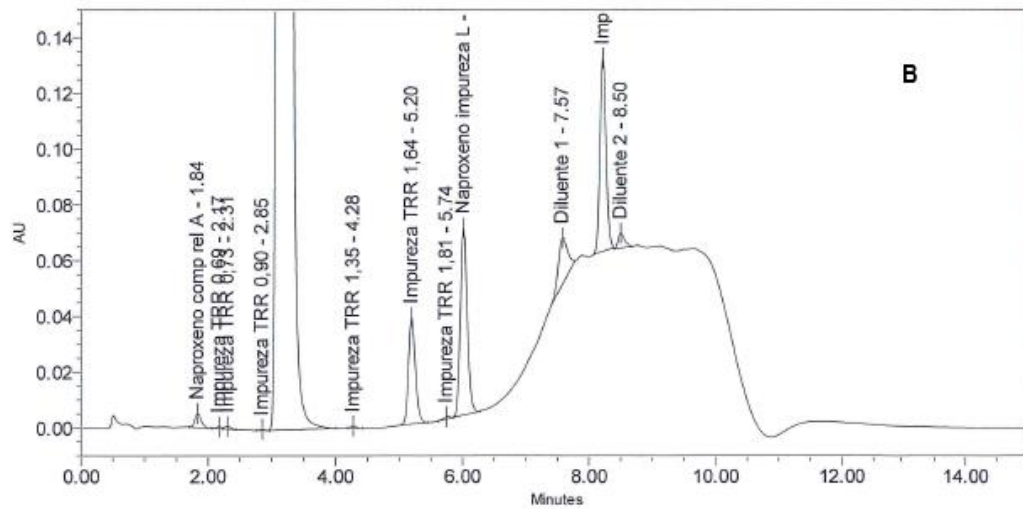
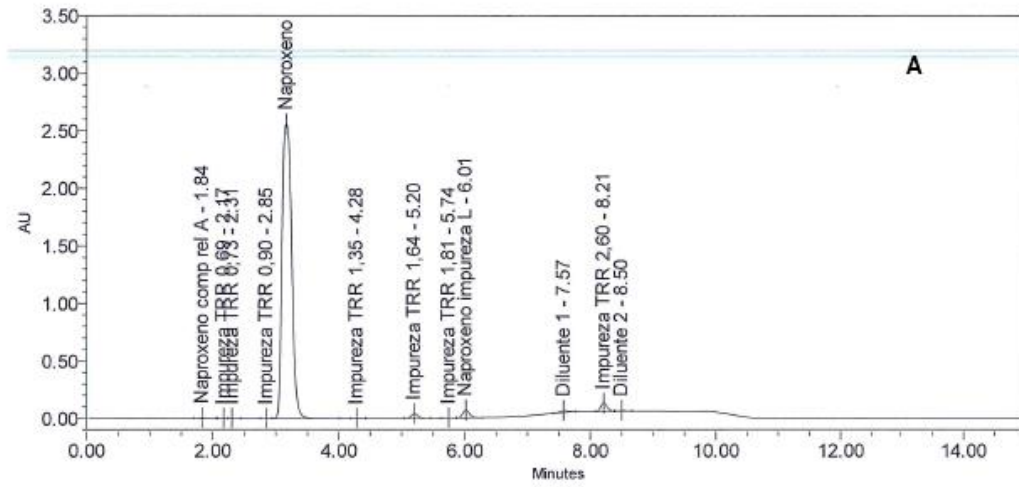
As amostras de NAP IFA, placebo e comprimidos foram submetidas à degradação fotolítica por meio da exposição das amostras pelo tempo necessário para incidência de não menos que 1,2 milhões de lux.hora, integrados a uma energia de ultra violeta próxima de não mais que 200,0 watt.horas/m<sup>2</sup>. Nesta condição, o IFA apresentou recuperação de 96,80% e percentual de impurezas de 3,91%. Os comprimidos apresentaram recuperação de 97,30% e 4,25% de impurezas, conforme demonstrado

nas **Figuras 29** e **30**. Para o placebo não houve a formação de novos picos, conforme pode ser visto na **Figura 31**.

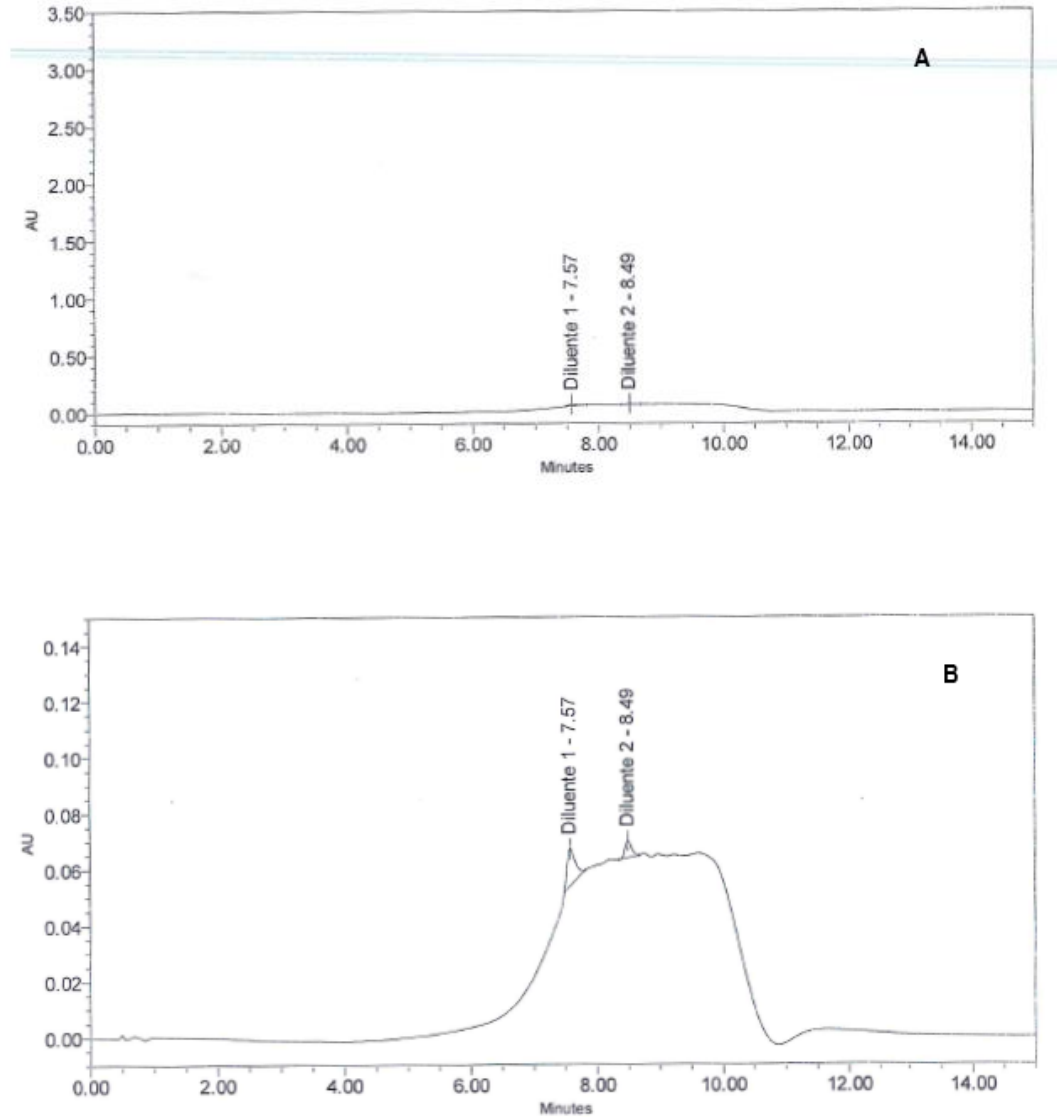
**Figura 29** - Cromatograma referente à degradação fotolítica na amostra de IFA NAP na concentração de 1,0 mg/mL, sem zoom (A) e com zoom (B).



**Figura 30** - Cromatograma referente à degradação fotolítica na amostra de comprimido de NAP na concentração de 1,0 mg/mL sem zoom (A) e com zoom (B).

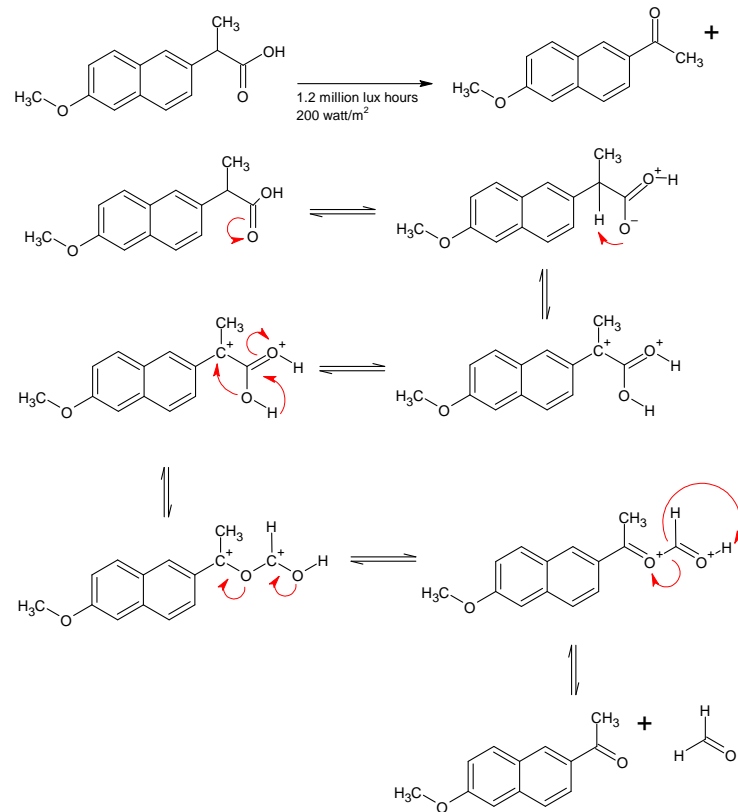


**Figura 31** - Cromatograma referente a degradação fotolítica na amostra de placebo, sem zoom (A) e com zoom (B).



A provável reação e mecanismo de degradação do naproxeno em condições drásticas de exposição a luz e radiação UV é apresentada na **Figura 32**. Devido à elevada energia no meio a molécula de naproxeno sofre um conjunto de rearranjos, dando origem ao naproxeno composto relacionado L e metanol.

**Figura 32** - Reação e mecanismos de fotodegradação da molécula de naproxeno.



Conforme observado no estudo e resumidamente nas **Tabelas 17 e 18**, não houve diferença significativa no perfil de degradação entre o IFA e os comprimidos nas condições degradadas, e houve degradação apenas na condição de fotólise. Nas demais condições não houve degradação significativa nas condições de end point do Guia TRS 929 da Organização Mundial de Saúde, devido à estabilidade da molécula, conforme demonstrado anteriormente.

Nas condições de hidrólise ácida e hidrólise básica empregando os degradantes na concentração de 5,0 M com temperatura de 60°C por 96 horas, foi possível observar degradação significativa do produto acabado e do IFA. As impurezas, compostos relacionados A e L e métil éster, são impurezas de degradação e devem ser monitoradas nos estudos de estabilidade. Além das impurezas conhecidas, as impurezas com TRR 0,34; TRR 0,69; TRR 0,73; TRR 0,90; TRR 1,14; TRR 1,64; TRR 1,71; TRR 1,81, TRR 2,00 e TRR 2,10 também foram formadas e devem ser monitoradas nos estudos de estabilidade.



**Tabela 17** - Resultados do estudo de degradação forçada obtidos para o IFA

<b>Produto</b>	<b>Condição</b>	<b>Recuperação (%)</b>	<b>Impureza (%)</b>	<b>Balanço de massa (%)</b>
Am. inicial	NA	100.0	0.03	100.0
Ácida (HCl)	0,1 M - 10 dias	101.6	0.02	101.6
Ácida (HCl)	5 M 60°C – 96 horas	65,9	28,5	94,4
Alcalina (NaOH)	0,1 M - 10 dias	102.5	0.02	102.6
Alcalina (NaOH)	5 M 60°C – 96 horas	83,50	9,8	93,30
Oxidante (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	3,0 % - 10 dias	100.3	0.13	100.4
Calor	60°C - 10 dias	100.8	0.03	100.8
Luz	1,2m hl + 200wh/m <sup>2</sup>	96.8	3.91	100.7
Umidade	40°C + 75% U.R. - 10 dias	101.5	0.02	101.5

**Tabela 18** - Resultados do estudo de degradação forçada obtidos para o produto acabado

<b>Produto</b>	<b>Condição</b>	<b>Recuperação (%)</b>	<b>Impureza (%)</b>	<b>Balanço de massa (%)</b>
Am. inicial	NA	100.00	0.03	100.0
Ácida (HCl)	0,1 M - 10 dias	101.4	0.02	101.4
Ácida (HCl)	5 M 60°C – 96 horas	85,0	17,1	102,1
Alcalina (NaOH)	0,1 M - 10 dias	102.0	0.94	102.9
Alcalina (NaOH)	5 M 60°C – 96 horas	81,5	12,4	93,9
Oxidante (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	3,0 % - 10 dias	98.4	0.65	99.1
Calor	60°C - 10 dias	101.0	0.02	101.0
Luz	1,2m hl + 200wh/m <sup>2</sup>	97.3	4.25	101.5
Umidade	40°C + 75% U.R. - 10 dias	101.0	0.02	101.0

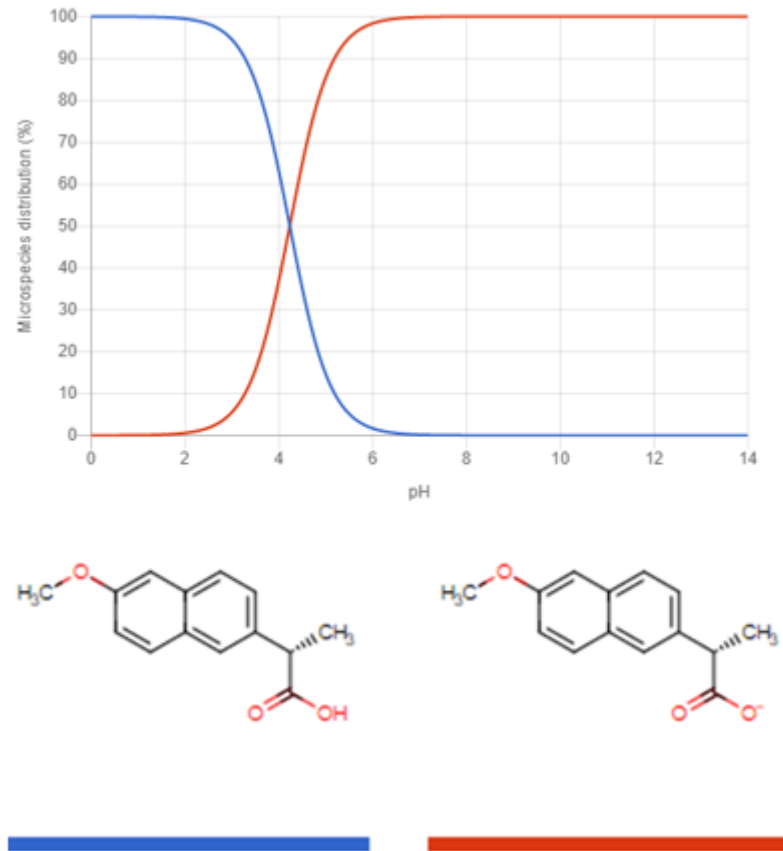
Vale ressaltar que as condições empregadas no estudo de degradação forçada são muito drásticas e não há possibilidade de o produto ser exposto a estas condições durante seu processo de fabricação ou armazenamento.

#### **5.4 Desenvolvimento de método indicativo de estabilidade por cromatografia líquida de alta eficiência**

Um método indicativo de estabilidade é um procedimento analítico validado que deve ser capaz de quantificar a diminuição do IFA no medicamento devido à degradação. Deve ser, portanto, um procedimento analítico quantitativo validado que possa ser usado para detectar como a estabilidade do produto farmacêutico muda com o tempo. Um método indicativo de estabilidade permite quantificar com precisão as alterações na concentração do IFA, sem a interferência de outros produtos de degradação, impurezas e excipientes (BLESSY et. al., 2014).

Antes de iniciar o desenvolvimento do método, é necessário conhecer diversas propriedades físico-químicas como valor de pKa, log de P, solubilidade e absorção máxima do fármaco, pois estabelecem uma base para o desenvolvimento de método por cromatografia líquida. O conhecimento do pKa é importante, pois auxilia na seleção do pH a ser usado na fase móvel (BAKSHI, 2002). Após pesquisa realizada, o perfil de ionização para a molécula do NAP em função do pH, está representado na **Figura 33**.

**Figura 33** - Distribuição das microespécies de NAP em função do pH do meio.



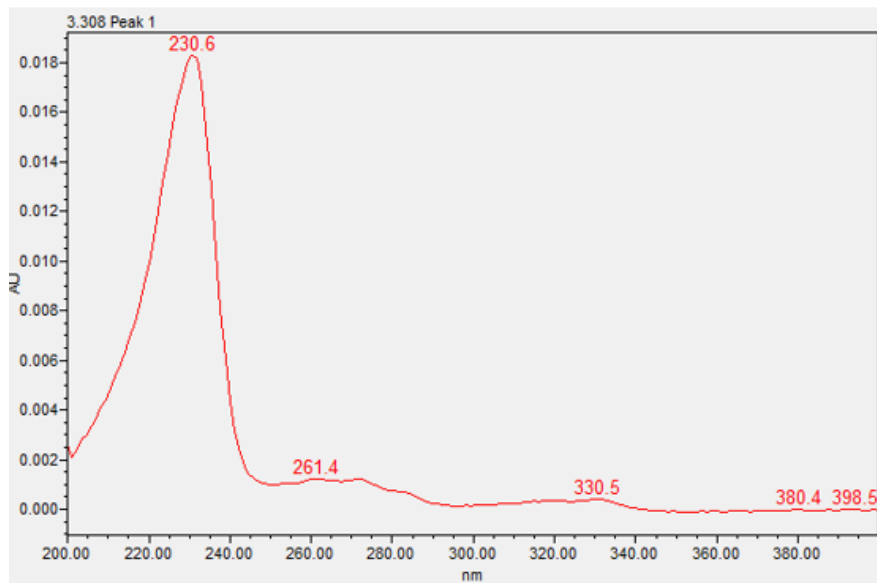
**Fonte:** CHEMICALIZE, acesso em 21 de dezembro de 2021.

Por meio da análise da distribuição das microespécies de NAP, concluiu-se que o pH da fase móvel utilizada poderia estar entre 7 e 14, uma vez que pH muito baixo não são indicados para colunas cromatográficas e dentro dessa faixa estabelecida ocorre o favorecimento da existência de apenas de uma microespécie. Com isso seriam evitados problemas como cauda no pico cromatográfico, devido à existência de outras espécies que podem possuir interações diferentes com a coluna.

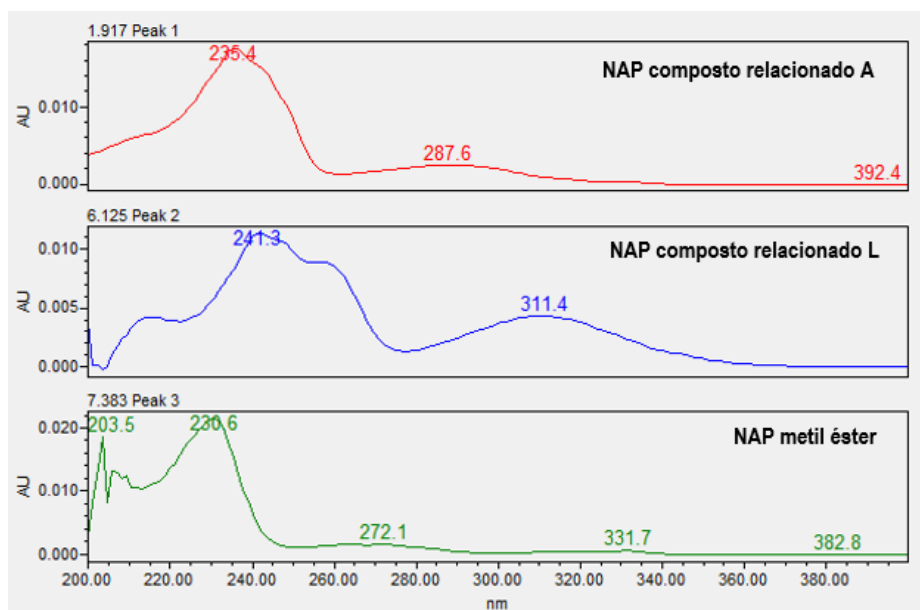
O logP do naproxeno é de cerca de 3,0; portanto, possui característica mais apolar. Assim, fase estacionária contendo grupos octadecilsilano (C18) seria adequada para produzir boa retenção deste analito. Ademais, o naproxeno possui elevada solubilidade em fases aquosas não ácidas, sendo o modo fase reversa apropriado para sua separação.

O naproxeno sódico apresenta boa absorvância na região do ultravioleta, sendo a absorção mais intensa na região de 230 nm, como pode ser visto no espectro de absorção apresentado na **Figura 34**. Assim como as impurezas conhecidas, naproxeno compostos relacionados A e L e naproxeno metil éster, conforme **Figura 35**.

**Figura 34** - Espectro de absorção do NAP Na<sup>+</sup> na região do ultravioleta.



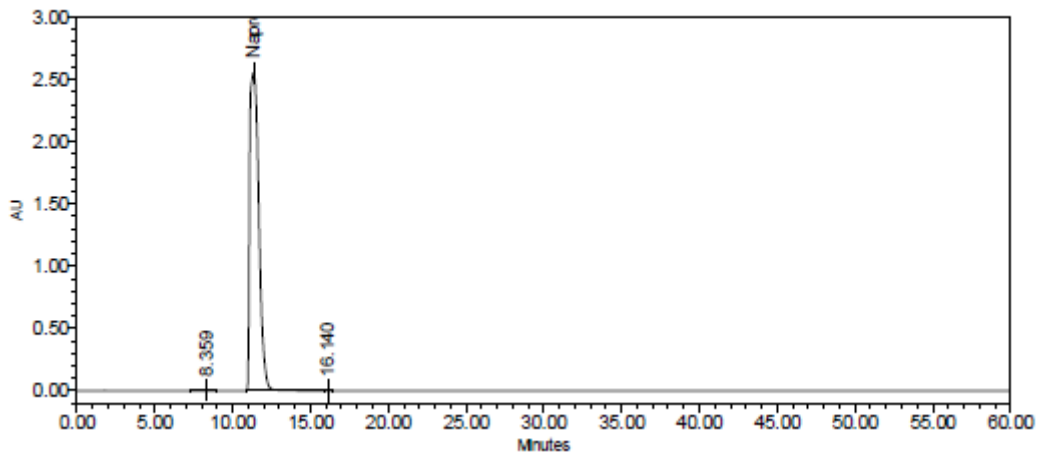
**Figura 35** - Espectro de absorção do NAP compostos relacionados A e L e naproxeno metil éster Na<sup>+</sup> na região do ultravioleta.



Assim, inicialmente empregou-se método cromatográfico com coluna C18 (150 x 4,6 mm, 5  $\mu$ m), fase móvel constituída de tampão fosfato de potássio monobásico 10 mM pH 6,5 e acetonitrila no modo gradiente, na vazão de 1,0 mL/min, temperatura de 40 °C, volume de injeção de 10  $\mu$ L e comprimento de onda de detecção de 236 nm.

Entretanto, nessa condição a solução amostra de comprimidos exposta a HCl 5 M por 96 horas a 60 °C, o NAP Na<sup>+</sup> apresentou recuperação de 77,00% e percentual de impurezas de 0,26%, conforme Figura 36. Desta forma, o método farmacopeico não se demonstrou indicativo de estabilidade.

**Figura 36** - Cromatograma referente à degradação ácida utilizando solução HCl 5 M em temperatura de 60 °C por 96 horas na amostra comprimido de NAP na concentração de 0,55 mg/mL, nas condições cromatográficas do método farmacopeico



Na sequência, o método foi transferido para cromatografia líquida de ultra eficiência (UHPLC), com o objetivo de aumentar a velocidade das análises e a eficiência de separação. Para isso, foi utilizado o software *Waters Column Calculator* e coluna *Acquity UPLC BEH C18* (50 x 2,1 mm; 1,7  $\mu$ m). Nessa condição foi injetada solução padrão contendo naproxeno sódico e as impurezas conhecidas, bem como as amostras de degradação ácida em solução de HCl 5 M por 96h a uma temperatura de 60 °C do NAP IFA e comprimidos. Após avaliação, optou-se então por utilizar o método descrito por Venkatarao e colaboradores (2012). Com essas mudanças observou-se um uma melhora na absorvidade e simetria do NAP e dos compostos relacionados conhecidos e controlados.

Uma vez que na degradação em meio ácido surgiram produtos de degradação muito polares, foi necessário iniciar as corridas com apenas 10% de metanol para permitir a separação entre eles. O gradiente definitivo no qual se obteve uma melhor resolução entre os picos, com boa assimetria e menor tempo, se encontra descrito na **Tabela 19** e as condições cromatográficas definitivas se encontram descritas na **Tabela 20**.

**Tabela 19** - Gradiente utilizado no método indicativo de estabilidade desenvolvido para NAP utilizando UPLC.

Tempo (min)	Metanol (%)	Acetonitrila (%)	Fase aquosa (%)	Eluição
0 - 2	10 → 15	10 → 15	80 → 70	Gradiente linear
2 - 5	15 → 25	15 → 25	70 → 50	Gradiente linear
5 - 6	25 → 35	25 → 35	50 → 30	Gradiente linear
6 – 8,5	35	35	30	Isocrática
8,5 – 9,5	35 → 10	35 → 10	30 → 80	Gradiente linear
9,5 - 15	10	10	80	Isocrática

**Tabela 20** - Condições cromatográficas definitivas do método indicativo de estabilidade desenvolvido para NAP utilizando UPLC.

Parâmetros	Condição
Coluna	Acquity UPLC BEH C18 50 x 2,1 mm (1,7 µm)
Composição da fase móvel	Metanol: ACN: Tampão fosfato de potássio monobásico 20 mM pH 7,0 (Tabela 17)
Comprimento de onda	236 nm
Modo de eluição	Gradiente
Vazão da fase móvel	0,3 mL/min
Temperatura do forno	40 °C
Volume de injeção	1,0 µL
Tempo de corrida	15 minutos

## 5.5 Validação

### 5.5.1 Seletividade e adequabilidade do sistema.

Os ensaios de seletividade foram feitos utilizando as amostras degradadas nas mesmas condições do estudo de degradação forçada. Também foi realizada a avaliação do placebo e do diluente. O método se mostrou seletivo já que, em todas as condições de degradação, a pureza de pico do NAP foi satisfatória (*purity angle* < *purity threshold*) (**Tabela 21 e 22**). Essa avaliação foi realizada na solução diluída a 0,1 mg/mL, uma vez que para avaliação desse parâmetro é necessário que o sinal obtido seja menor que 1,0 AU.

**Tabela 21** - Resultados de pureza de pico para o NAP em amostras de comprimido do estudo de degradação forçada.

Produto	Condição	Angle	Threshold
Am. inicial	NA	3,925	5,532
Ácida (HCl)	0,1 M - 10 dias	3,754	4,841
Alcalina (NaOH)	0,1 M - 10 dias	3,710	4,862
Oxidante (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	3,0 % - 10 dias	3,901	5,375
Calor	60 °C - 10 dias	4,145	5,133
Luz	1,2 m hl + 200 wh/m	3,910	6,151
Umidade	40 °C + 75% U.R. - 10 dias	4,137	5,827
Ácida (HCl)	5,0 M – 96 h 60 °C	0,789	1,910
Alcalina (NaOH)	5,0 M – 96 h 60 °C	0,437	0,874

**Tabela 22** - Resultados de pureza de pico para o NAP em amostras de IFA do estudo de degradação forçada.

IFA	Condição	Angle	Threshold
Am. inicial	NA	3,791	5,172
Ácida (HCl)	0,1 M - 10 dias	3,808	4,325
Alcalina (NaOH)	0,1 M - 10 dias	3,883	4,997
Oxidante (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	3,0 % - 10 dias	3,842	4,446
Calor	60 °C - 10 dias	3,931	5,953
Luz	1,2 m hl + 200 wh/m	3,999	6,301
Umidade	40 °C + 75% U.R. - 10 dias	4,133	5,853
Ácida (HCl)	5,0 M – 96 h 60 °C	0,783	2,131
Alcalina (NaOH)	5,0 M – 96 h 60 °C	1,617	4,301

A avaliação da adequabilidade do sistema foi realizada no início de cada corrida analítica, sendo injetada três vezes a mesma solução padrão de NAP a 2,0 µg/mL e avaliados os parâmetros fator de cauda, pratos teóricos, desvio padrão relativo da área sob o pico de NAP (DPR área) e desvio padrão relativo do tempo de retenção (DPR tR). Os resultados obtidos estão descritos na **Tabela 23**. Todos os resultados foram considerados satisfatórios.

**Tabela 23** - Resultado da avaliação da adequabilidade do sistema cromatográfico.

Parâmetro avaliado	Fator de cauda	Pratos teóricos	Área	Tempo de retenção
<b>Média</b>	1,21	5189	81533	3,24
<b>DPR (%)</b>	0,78	0,39	0,32	0,15

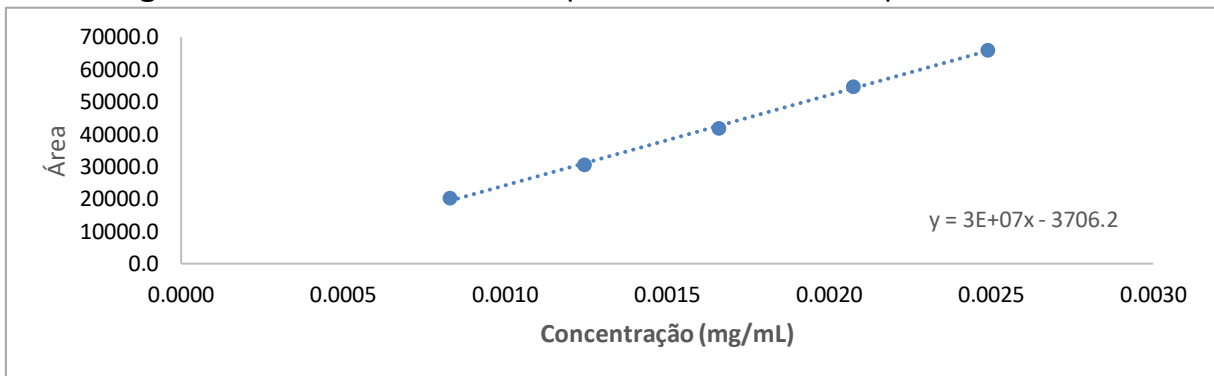


### 5.5.2 Linearidade

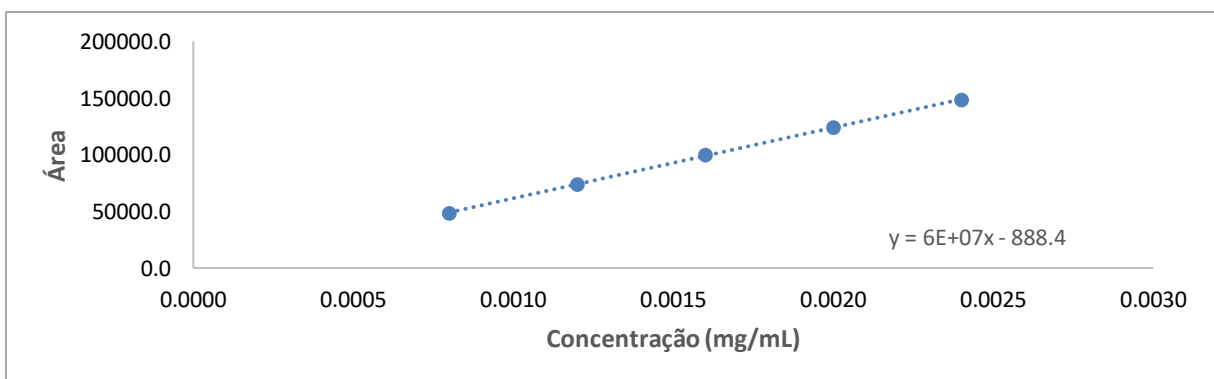
A linearidade do método foi demonstrada pelas curvas de calibração construídas para o naproxeno sódico, naproxeno composto relacionado A e L e naproxeno metil-éster, na concentração de 40% a 120% da concentração de trabalho.

Foi obtida a curva média para linearidade (**Figura 37, 38, 39 e 40**), sendo a representação dos pontos individuais sobre a curva referenciados como  $(x_1, y_1)$ ,  $(x_2, y_2)$ ,  $(x_3, y_3)$  e etc. A média aritmética dos valores de  $x$  é chamada de  $(\bar{x})$  a média aritmética dos valores de  $y$  é  $(\bar{y})$ . A posição  $(\bar{x}, \bar{y})$  é denominada centroide de todos os pontos.

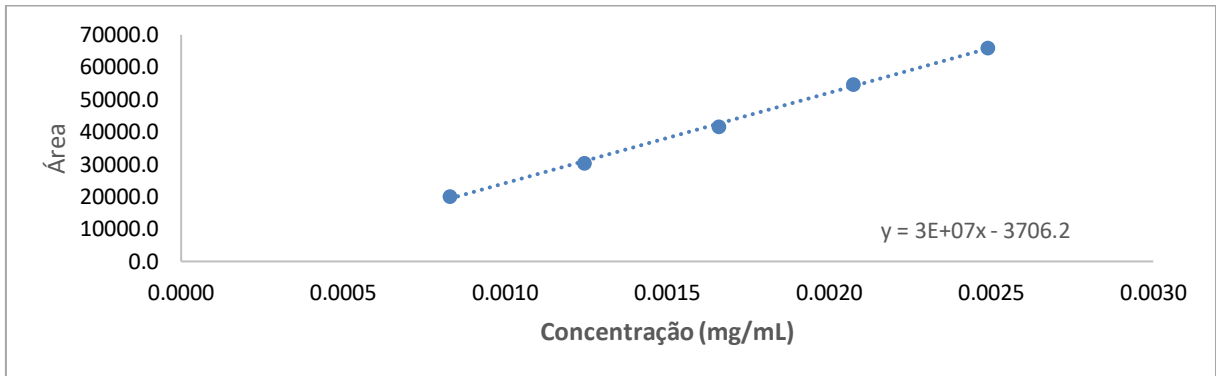
**Figura 37** - Curva média obtida para linearidade do naproxeno sódico.



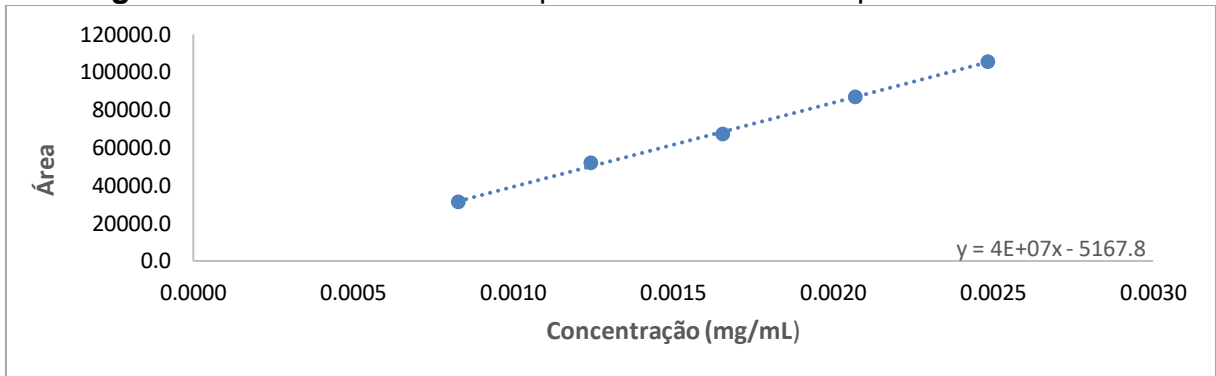
**Figura 38** - Curva média obtida para linearidade do naproxeno composto relacionado A.



**Figura 39** - Curva média obtida para linearidade do naproxeno composto relacionado L.



**Figura 40** - Curva média obtida para linearidade do naproxeno metil éster.



Foi avaliada a relação linear entre as variáveis pelo coeficiente de correlação de Person ( $r$ ). Para o naproxeno sódico o valor foi de 0,993, para o naproxeno composto relacionado A foi de 1,000, para o naproxeno composto relacionado L foi de 0,999 e para o naproxeno metil éster foi de 0,999, evidenciando assim a existência de correlação linear entre as concentrações do analito e as áreas obtidas.

A regressão de Y em X pelo método dos mínimos quadrados foi utilizada para estimativa da reta, sendo a regressão da reta dada por:

$$y = a + bx$$

Onde:

b = Inclinação da reta de mínimos quadrados: 
$$(b) = \frac{\sum_{i=1}^n [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

a = Intercepto da reta do mínimo quadrados:  $(a) = \bar{y} - b\bar{x}$

Desta forma, a equação da reta obtida para o naproxeno sódico foi  $y = 4609,8 + 38589657x$ ; para naproxeno composto relacionado A  $y = - 888,4 + 62422408,9x$ ; para o naproxeno composto relacionado L  $y = - 3706,2 + 27945249,6x$ ; e para naproxeno metil éster  $y = - 5167,8 + 44262050,5x$ .

As equações das retas obtidas foram utilizadas para cálculo do fator resposta, ou seja, a relação entre a inclinação da reta das impurezas pela inclinação da reta do ativo (NAP). Desta forma, obteve-se os valores 1,62 para NAP composto relacionado A; 0,72 para NAP composto relacionado L; e 1,15 para NAP metil éster. Com isso, o método a ser utilizado permite a quantificação das impurezas conhecidas sem a necessidade de injeção de padrão de referências dos mesmos.

Foi ainda realizado o teste de Cochran para os dados visando a avaliação da homogeneidade das variâncias (homocedasticidade), comparando a maior variância com a soma das variâncias. O critério foi ao nível de 5,0% de significância (“C calculado” em relação a “C crítico”), de forma que:

$C_{Calculado} < C_{Crítico} \Rightarrow$  Aceita se a hipótese nula (*homocedástico*)

$C_{Calculado} \geq C_{Crítico} \Rightarrow$  Rejeita se a hipótese nula (*heterocedástico*)

Sendo o  $C_{crítico}$  calculado de acordo com o número de medidas (réplicas) e com o número de pontos ao nível de significância de 5% (BRASIL, 2017).

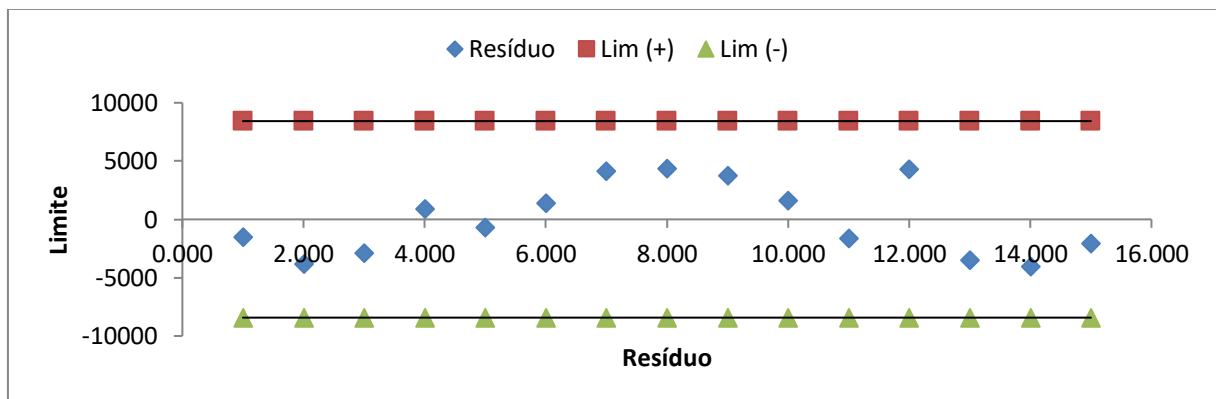
Na validação do método obteve-se o C calculado igual a 0,671 para o naproxeno sódico, 0,323 para o NAP composto relacionado A, 0,417 para o NAP composto relacionado L e 0,622 para o NAP metil éster, sendo todos menores que o C crítico 0,684, evidenciado a homoscedasticidade das curvas obtidas, e que o método dos mínimos quadrados ordinários é adequado.

Empregou-se também o teste F na análise de variância com o objetivo de testar a significância da estimativa do coeficiente associado à variável independente – x, concentração, e calcular o coeficiente de determinação ( $r^2$ ) com o objetivo de averiguar o grau de explicação do modelo.

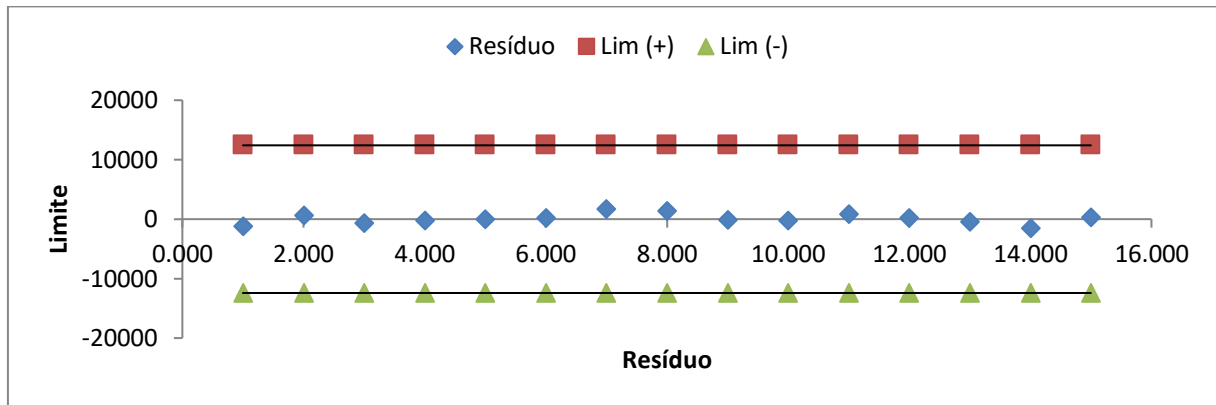
Por meio dos dados obtidos na análise de variância (ANOVA), pode-se concluir que a regressão é significativa, pois F calculado para NAP (11,05), NAP composto relacionado A (5,49), NAP composto relacionado L (6,69) e NAP metil éster (4,74) é maior que F tabelado (4,67). Ou seja, há diferença estatística entre as médias das áreas das diferentes concentrações dos analitos utilizadas no teste de linearidade.

Também foram avaliados os gráficos de resíduos gerados pela regressão, sendo as representações gráficas apresentadas nas **Figura 41, 42, 43 e 44**. Nestas pode-se verificar que os dados de regressão se comportam de forma homogênea e estão normalmente distribuídos em torno da reta de regressão.

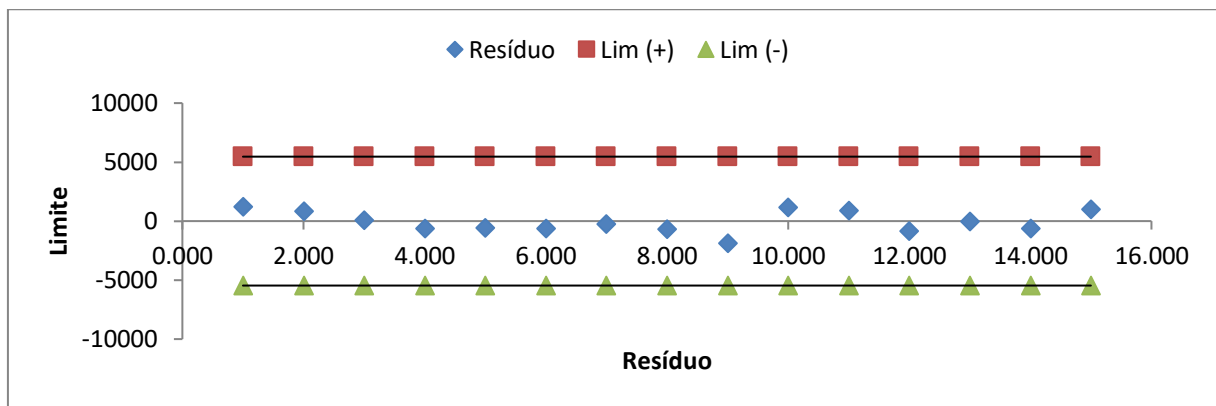
**Figura 41** - Representação gráfica dos resíduos para NAP.



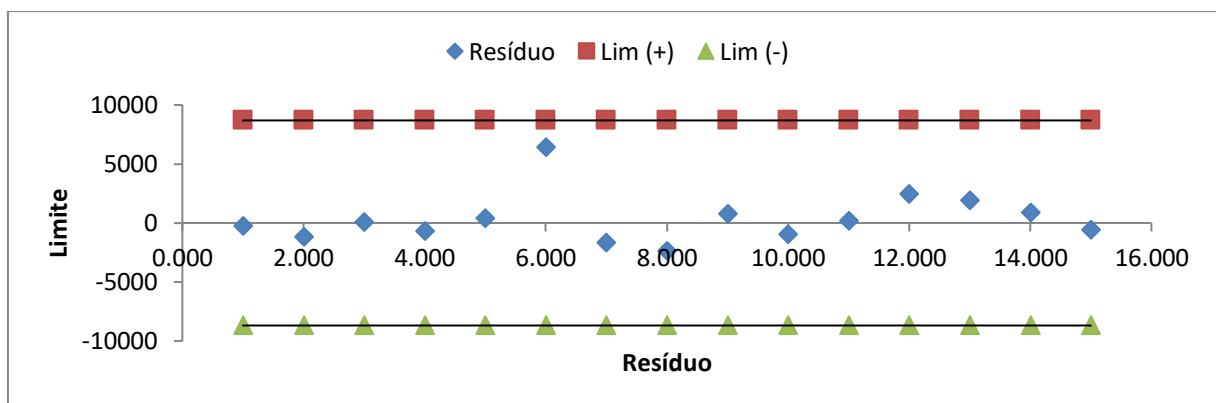
**Figura 42** - Representação gráfica dos resíduos para NAP composto relacionado A.



**Figura 43** - Representação gráfica dos resíduos para NAP composto relacionado L.



**Figura 44** - Representação gráfica dos resíduos para NAP metil éster.



Dessa forma, após cumprir todas as recomendações previstas na RDC 166/17, o método indicativo de estabilidade para determinação de NAP foi considerado linear na faixa entre 40 e 120% da concentração de trabalho.

### 5.5.3 Precisão

A precisão foi avaliada para o analista 1 no dia 1 e utilizou 9 (nove) determinações, contemplando o intervalo linear do método analítico (70% até 120% da concentração limite da impureza individual) ou seja, 3 (três) concentrações, e com 3 (três) réplicas em cada nível. A precisão intermediária foi avaliada com o conjunto de dados de precisão do analista 1 e analista 2 realizados em dias diferentes e demonstrada pela dispersão dos resultados, calculando-se o desvio padrão relativo (DPR) das séries de medições do analista 1 e analista 2 em conjunto.

Realizou-se a injeção da solução padrão de naproxeno sódico a 2,0 µg/mL. O teor médio de cada nível foi determinado multiplicando a resposta obtida pelo fator resposta determinado para cada impureza. Foi calculado o DPR para cada nível e para a precisão intermediária. Os resultados se encontram descritos na **Tabela 24, 25, 26 e 27.**

**Tabela 24** - Valores de teor médio e DPR estimados para precisão e precisão intermediária para NAP em placebo contaminado.

	Nível	Teor médio (%)	DPR (%)
1 ° dia de análise (analista 1)	40	40,20	8,14
	100	97,64	2,09
	120	116,60	1,36
2 ° dia de análise (analista 2)	40	39,29	5,54
	100	98,96	0,06
	120	118,72	0,56
Precisão intermediária	40	39,75	6,38
	100	98,30	1,50
	120	117,66	1,35

**Tabela 25** - Valores de teor médio e DPR estimados para precisão e precisão intermediária para NAP composto relacionado A em amostra contaminada.

	Nível	Teor médio (%)	DPR (%)
1 ° dia de análise (analista 1)	40	36,19	1,09
	100	91,33	0,55
	120	108,95	0,59
2 ° dia de análise (analista 2)	40	36,46	0,83
	100	92,13	0,92
	120	110,10	0,64
Precisão intermediária	40	36,33	0,95
	100	91,73	0,83
	120	109,52	0,80

**Tabela 26** - Valores de teor médio e DPR estimados para precisão e precisão intermediária para NAP composto relacionado L em amostra contaminada.

	Nível	Teor médio (%)	DPR (%)
1 ° dia de análise (analista 1)	40	37,27	1,29
	100	94,84	0,96
	120	113,56	0,58
2 ° dia de análise (analista 2)	40	37,19	1,67
	100	95,60	1,05
	120	115,05	1,35
Precisão intermediária	40	37,23	1,34
	100	95,22	1,00
	120	114,30	1,18

**Tabela 27** - Valores de teor médio e DPR estimados para precisão e precisão intermediária para NAP metil éster em amostra contaminada.

	Nível	Teor médio (%)	DPR (%)
1 ° dia de análise (analista 1)	40	32,42	1,06
	100	83,01	0,78
	120	99,73	1,07
2 ° dia de análise (analista 2)	40	31,85	0,13
	100	83,84	0,55
	120	99,76	0,74
Precisão intermediária	40	32,14	1,18
	100	83,43	0,82
	120	99,75	0,82

Estatisticamente, o método apresentou-se preciso e verificou-se que cumpre com todos os critérios de aceitação, uma vez que o DPR apresentou valores abaixo de 11,0%, como recomendado pelo guia da AOAC (2016), estabelecendo assim adequabilidade à finalidade pretendida do método.

#### 5.5.4 Exatidão

A exatidão do método foi determinada após a avaliação das amostras de placebo fortificado para avaliação do NAP e amostra fortificada para análise do NAP composto relacionado A e L, e naproxeno metil éster, em nove determinações nos 3 níveis de concentração: 40, 100 e 120%. O cálculo da recuperação da exatidão foi realizado multiplicando a resposta obtida pelo fator resposta determinado para cada impureza e a média da porcentagem de recuperação avaliada. Na **Tabela 28, 29, 30 e 31** estão demonstrados os resultados da exatidão.



**Tabela 28** - Porcentagem de recuperação de NAP adicionada ao placebo para avaliação da exatidão.

<b>Nível</b>	<b>Recuperação média (%)</b>	<b>DPR (%)</b>
40	100,61	8,14
100	97,74	2,09
120	97,26	1,36

**Tabela 29** - Porcentagem de recuperação média de NAP composto relacionado A adicionada a amostra para avaliação da exatidão.

<b>Nível</b>	<b>Recuperação média (%)</b>	<b>DPR (%)</b>
40	91,40	1,09
100	92,25	0,55
120	91,71	0,59

**Tabela 30** - Porcentagem de recuperação média de NAP composto relacionado L adicionada a amostra para avaliação da exatidão.

<b>Nível</b>	<b>Recuperação média (%)</b>	<b>DPR (%)</b>
40	93,18	1,29
100	94,84	0,96
120	94,63	0,58

**Tabela 31** - Porcentagem de recuperação média de NAP metil éster adicionada a amostra para avaliação da exatidão.

<b>Nível</b>	<b>Recuperação (%)</b>	<b>DPR (%)</b>
40	81,13	1,06
100	83,09	0,78
120	83,19	1,07

Após a avaliação dos resultados, o método apresentou-se exato e verificou-se que cumpre com o critério de aceitação de recuperação entre 80 e 110% definidos para a exatidão, estabelecendo assim adequabilidade à finalidade pretendida do método.

#### 5.5.5 Robustez

A robustez é um parâmetro tipicamente realizado no desenvolvimento do método analítico que indica a sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. (BRASIL, 2017). Foram avaliadas as influências das variações através de experimentos de combinação fatorial pelo teste de Youden. Este teste permite determinar os parâmetros analíticos escolhidos que apresentam maior influência nos resultados da análise, levando-se em conta que o impacto das variações propostas nos resultados obtidos deve contemplar o mesmo critério de recuperação da exatidão e as variações de tempo de retenção, assimetria e pratos teóricos dentro da adequabilidade do método. Os resultados estão demonstrados nas **Tabelas 32, 33, 34 e 35.**

**Tabela 32** - Efeito de cada variável calculada pelo método de *Youden* e a conclusão da influência sobre o NAP em placebo fortificado.

Variável avaliada	Tempo de retenção	Assimetria	Pratos teóricos	% de variação da recuperação	Conclusão
Variação do pH da Solução B	- 0,18	- 0,01	- 982,88	- 0,48	Aprovado
Temperatura inicial da coluna	- 0,16	- 0,05	- 819,38	0,12	Aprovado
Vazão da fase móvel	- 0,80	- 0,19	- 817,38	0,73	Aprovado
Lote da coluna	0,09	0,05	566,13	- 0,59	Aprovado

**Tabela 33** - Efeito de cada variável calculada pelo método de *Youden* e a conclusão da influência sobre o NAP composto relacionado A em amostra fortificada.

Variável avaliada	Assimetria	Pratos teóricos	% de variação da recuperação	Conclusão
Variação do pH da Solução B	- 0,03	- 540,75	- 0,11	Aprovado
Temperatura inicial da coluna	- 0,04	- 676,50	0,80	Aprovado
Vazão da fase móvel	- 0,20	- 690,00	- 0,47	Aprovado
Lote da coluna	0,06	445,75	0,78	Aprovado

**Tabela 34** - Efeito de cada variável calculada pelo método de *Youden* e a conclusão da influência sobre o NAP composto relacionado L em amostra fortificada.

Variável avaliada	Assimetria	Pratos teóricos	% de variação da recuperação	Conclusão
Variação do pH da Solução B	- 0,01	- 2826,13	0,34	Aprovado
Temperatura inicial da coluna	- 0,05	- 2212,38	0,69	Aprovado
Vazão da fase móvel	- 0,12	- 1563,38	3,82	Aprovado
Lote da coluna	0,05	1722,88	0,59	Aprovado

**Tabela 35** - Efeito de cada variável calculada pelo método de *Youden* e a conclusão da influência sobre o NAP metil éster em amostra fortificada.

Variável avaliada	Assimetria	Pratos teóricos	% de variação da recuperação	Conclusão
Variação do pH da Solução B	- 0,04	- 2195,25	- 2,77	Aprovado
Temperatura inicial da coluna	- 0,04	- 2482,00	- 0,39	Aprovado
Vazão da fase móvel	- 0,13	2681,25	- 7,09	Aprovado
Lote da coluna	0,04	1814,25	1,76	Aprovado

A partir dessa avaliação, conclui-se que o método é robusto para variação do pH da solução B, temperatura inicial da coluna, vazão da fase móvel e lote da coluna.

#### 5.5.6 Limite de quantificação

O limite de quantificação foi determinado pela relação sinal/ruído, conforme descrito no item 4.2.6.7. O valor encontrado foi 0,8 µg/mL, sendo esse valor 40% da concentração de trabalho.

A exatidão e precisão do LQ foi verificada com 6 determinações contemplando o nível mais baixo da curva analítica avaliada (40%). Para tanto, quantidades conhecidas do padrão de NAP foram adicionadas a solução placebo, e quantidades conhecidas de NAP composto relacionado A e L e NAP metil éster foram adicionadas na solução amostra, de forma que a concentração descrita acima fosse alcançada.

Na **Tabela 36** é possível observar a recuperação média do NAP, NAP composto relacionado A e L, e NAP metil éster, sendo que nenhum valor individual extrapolou a faixa definida de 80% a 110%, e o DPR entre as 6 determinações foi de até 11,0%. Desta forma, os parâmetros precisão e exatidão do limite de quantificação podem ser considerados validados.

**Tabela 36** - Avaliação da precisão e exatidão no limite de quantificação do NAP, NAP composto relacionado A e L, e NAP metil éster.

Ativo	Recuperação média (%)	DPR (%)
NAP	98,82	6,42
NAP composto relacionado A	90,50	0,76
NAP composto relacionado L	92,64	1,37
NAP metil éster	80,78	0,87

## 5.6 Estudo da interação entre fármaco e excipientes

### 5.6.1 Estudo de degradação forçada com misturas binárias em condição de temperatura e umidade

Após a realização do estudo de degradação forçada com as misturas binárias, não foi evidenciada a formação de impurezas e nem queda de teor em nenhuma das misturas avaliadas, mesmo após a exposição à condição de temperatura e umidade elevadas, conforme descrito na **Tabela 37**. Desta forma, os resultados encontrados não indicam nenhuma incompatibilidade química entre o naproxeno sódico e os excipientes usados na formulação.

**Tabela 37** - Resultados de teor de naproxeno sódico e substâncias relacionadas das misturas binárias 1:1 entre o IFA e excipientes propostos após teste a 40 °C e 75% U.R por 30 dias.

Mistura binária	Teor (%)	Impurezas totais (%)
Naproxeno sódico + Polietilenoglicol	97,80	0,03
Naproxeno sódico + Lactose	98,13	0,04
Naproxeno sódico + Polivinilpirrolidona	97,71	0,05
Naproxeno sódico + Celulose	97,51	0,05
Naproxeno sódico + Croscarmelose sódica	100,39	0,04
Naproxeno sódico + Dióxido de silício	100,46	0,05
Naproxeno sódico + Estearato de magnésio	101,23	0,04
Naproxeno sódico + Opadry	97,83	0,03

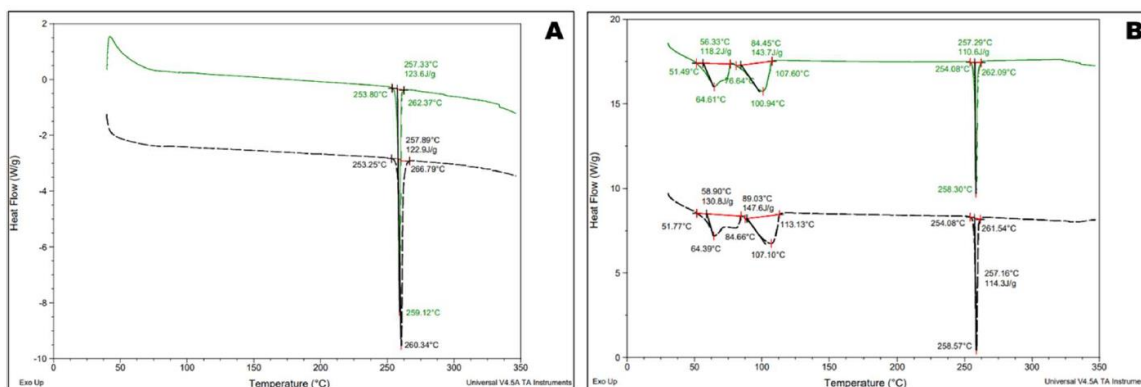
### 5.6.2 Estudo de compatibilidade entre o naproxeno sódico e os excipientes da formulação por meio de análises térmicas

O estudo de compatibilidade através das técnicas analíticas DSC e TG possibilita conhecer as interações físicas e químicas entre o ativo e excipientes, podendo auxiliar

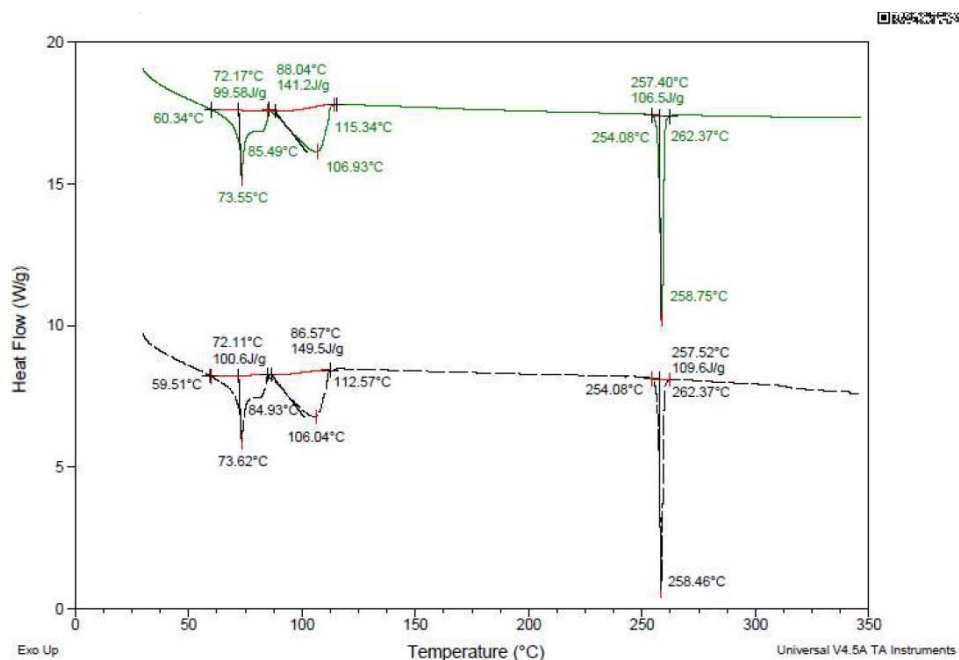
na seleção dos componentes, na identificação dos produtos de degradação e na compreensão das reações.

Os diagramas de DSC obtidos para a amostra do NAP Na<sup>+</sup> nos tempos T0 e T30, estão representados nas **Figuras 45 e 46**, respectivamente e na **Tabela 38**. Na **Figura 45** são representados os diagramas de DSC do material de partida, o NAP Na<sup>+</sup> anidro (**Figura 45A**), e o NAP Na<sup>+</sup> após maceração (**Figura 45B**). Comparando-se esses diagramas observa-se que a maceração com exposição da amostra a um ambiente sem umidade controlada altera as características do IFA indicando que houve absorção de água durante o preparo das misturas. Esse fato não compromete as interpretações dos resultados e do estudo como um todo, pois constatou-se a permanência desse evento na totalidade das amostras/misturas binárias analisadas considerando, principalmente, que o evento atribuído à hidratação do material ocorre numa região de temperatura que não comprometeu a visualização e interpretação dos resultados tanto nos diagramas de DSC quanto nos termogramas de TGA.

**Figura 45** - Diagramas experimentais de DSC da amostra do naproxeno sódico no tempo T0. A: Naproxeno sódico analisado sem maceração do material; B: Naproxeno sódico analisado após maceração do material.



**Figura 46** - Diagramas experimentais de DSC da amostra do naproxeno sódico no tempo T30.



**Tabela 38** - Resultados das médias dos ensaios DSC para o Naproxeno sódico.

Amostra	Temperatura (°C) pico	Entalpia (J/g)	Característica	Evento
Naproxeno sódico T <sub>0</sub>	64,5	-124,5	Endotérmico Média intensidade	Desidratação
	104,0	-145,7	Endotérmico Média intensidade	Desidratação
	258,4	-112,5	Endotérmico Alta intensidade	Fusão
Naproxeno sódico T <sub>30</sub>	73,6	-100,1	Endotérmico Média intensidade	Desidratação
	106,5	-145,4	Endotérmico Média intensidade	Desidratação
	258,6	-108,1	Endotérmico Alta intensidade	Fusão

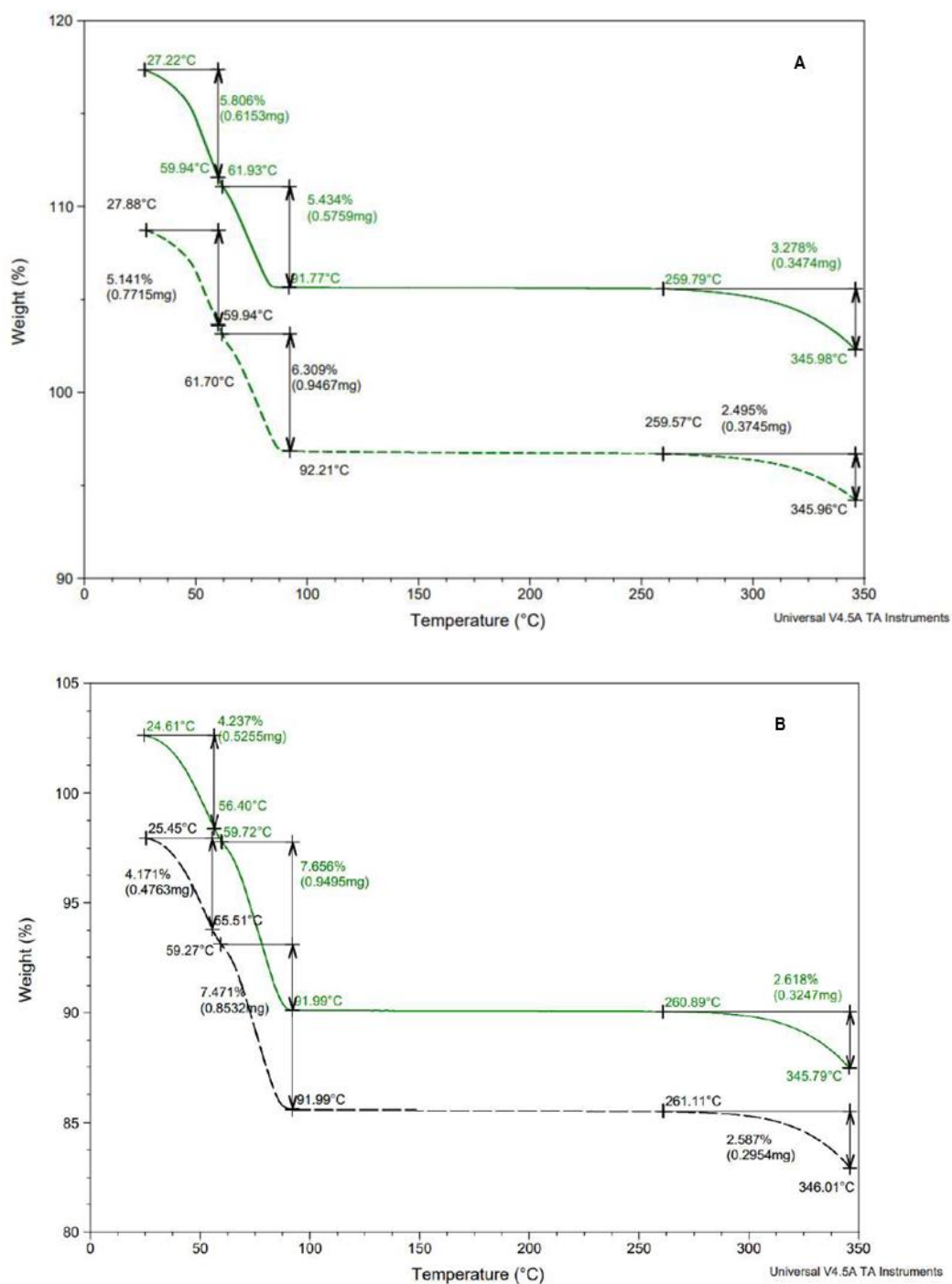
O comportamento térmico do naproxeno sódico contempla principalmente um evento endotérmico com pico em 258,4 °C e entalpia de -112,5 J/g relativo à fusão da substância. As características do pico (simétrico e bem definido) reflete a característica cristalina do material. Além desse evento, observam-se ainda dois eventos endotérmicos relativos à perda de água nas amostras de naproxeno sódico após a maceração do material e após a incubação da amostra às condições elevadas de temperatura e umidade. As temperaturas desses dois picos relacionados à perda de água do ativo estão em consonância com estudos apresentados (DI MARTINO, 2001).

Comparando os diagramas no tempo T0 (**Figura 45**) com o diagrama em T30 (**Figura 46**), observa-se que não há alterações significativas entre eles. Isto mostra que a substância permaneceu estável nas condições do teste.

Os resultados obtidos dessas amostras quando submetidas a análise por TGA corroboram com todos os dados de DSC dessa substância. Na **Figura 47** e na **Tabela 39** a seguir pode-se observar que o NAP Na<sup>+</sup> tem dois eventos de perda de massa de aproximadamente 5,7% cada uma, que são atribuídos à perda de duas moléculas de água. Posteriormente, entre 260,0 °C e 346,0 °C observa-se uma perda de massa de aproximadamente 2,9% que é atribuída à degradação da molécula. A comparação das curvas TGA obtidas em T0 (**Figura 47A**) e T30 (**Figura 47B**) mostra que o perfil termogravimétrico não sofreu mudanças significativas.



**Figura 47** - Curvas experimentais de TGA da amostra do naproxeno sódico em (A) tempo T0 e (B) tempo T30.



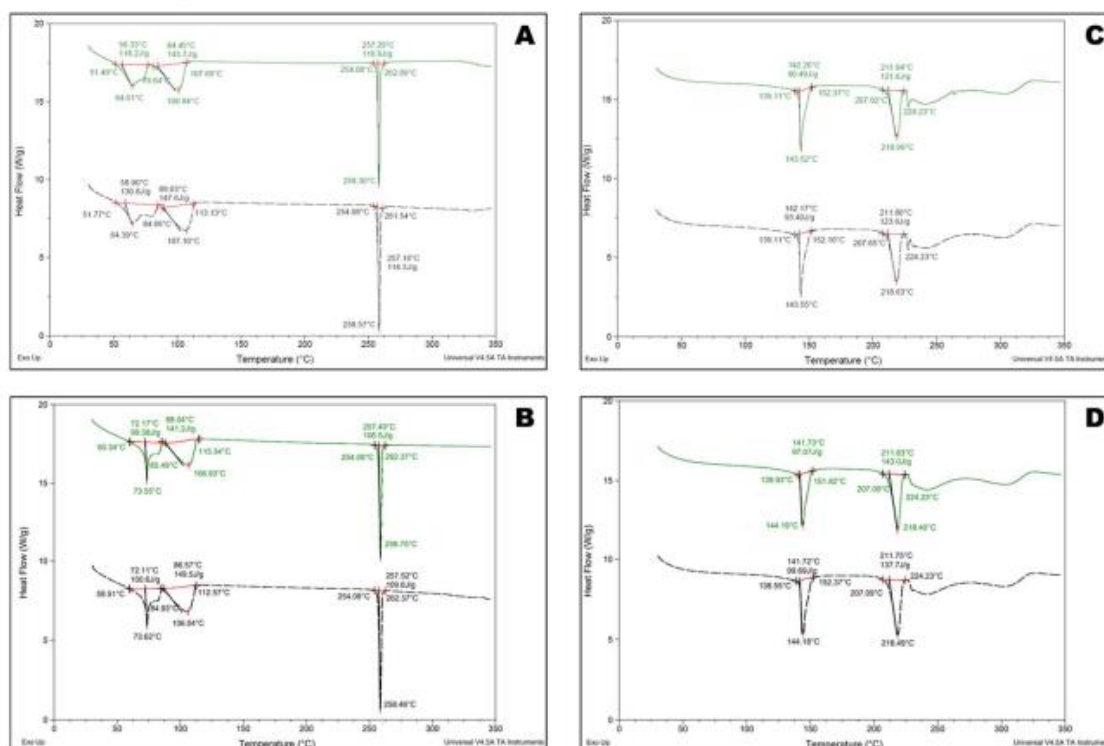
**Tabela 39** - Resultados das médias dos ensaios TGA para o Naproxeno sódico.

Amostra	Faixa de Temperatura (°C)	% Perda de massa	Evento
Naproxeno sódico T <sub>0</sub>	27,6 – 59,9	5,5	Desidratação
	61,8 – 92,0	5,9	Desidratação
	260,0 – 346,0	2,9	Desidratação
Naproxeno sódico T <sub>30</sub>	25,0 – 56,0	4,2	Desidratação
	59,5 – 92,0	7,6	Desidratação
	259,7 – 345,9	2,6	Desidratação

O principal evento térmico considerado neste estudo foi a fusão do IFA NAP Na<sup>+</sup> e foi monitorado em todos os diagramas e termogramas analisados e comparados. Esse evento sofreu pequenos deslocamentos em algumas amostras binárias, evidenciando interações físicas. Outros deslocamentos mais acentuados ou total supressão também foram observados, evidenciando interações químicas com dois excipientes, sendo eles a lactose e a polivinilpirrolidona.

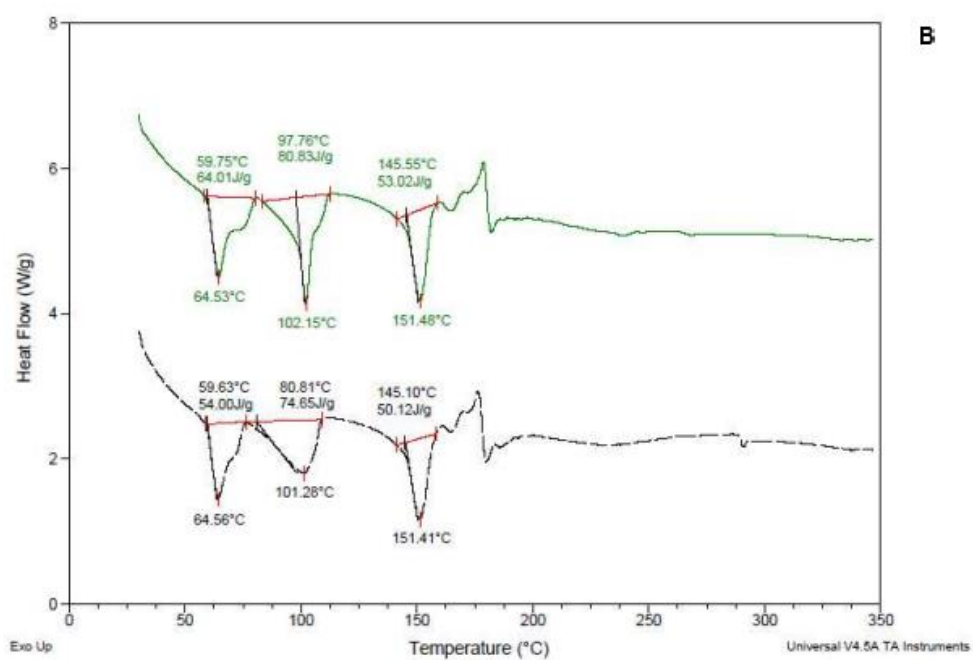
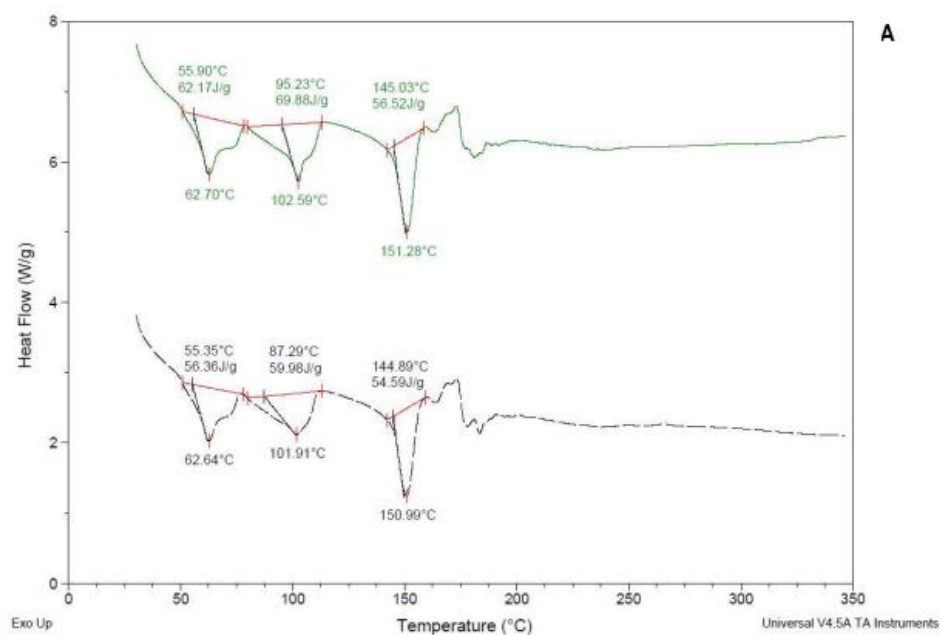
Os diagramas de DSC obtidos na análise do excipiente lactose se mostrou estável na janela de análise após incubação de 30 dias. Comparando os diagramas da lactose no tempo T<sub>0</sub> (**Figura 48C**) com o diagrama em T<sub>30</sub> (**Figura 48D**), observa-se que não há alterações significativas entre eles.

**Figura 48** - Diagramas experimentais de DSC. A: naproxeno sódico em T0; B: naproxeno sódico em T30; C: lactose em T0; D: lactose em T30.



Analisando os diagramas de DSC correspondentes à análise da mistura binária naproxeno sódico + lactose nos tempos T0 (**Figura 49A**) e T30 (**Figura 49B**) e a **Tabela 40**, observam-se a presença de 3 eventos térmicos relevantes, sendo dois eventos de desidratação do ativo naproxeno sódico e do evento de perda de água de cristalização da lactose (VERMA e GARG, 2005). Entretanto, não é possível identificar os eventos correspondentes à fusão do ativo naproxeno sódico e à fusão da lactose. Esse fato demonstra a interação química entre a Lactose e o Naproxeno sódico.

**Figura 49** - Diagramas experimentais de DSC das amostras da mistura binária naproxeno sódico + lactose no tempo T0 (A) e T30 (B).

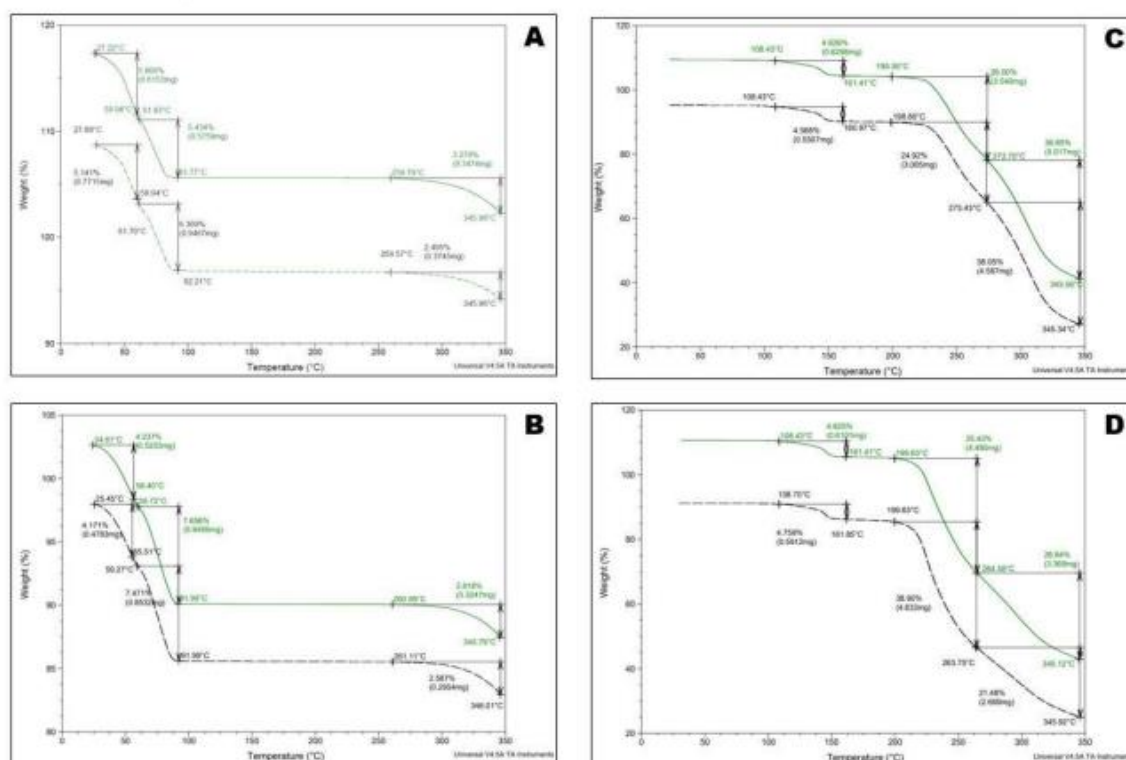


**Tabela 40** - Resultados das médias dos ensaios DSC para a mistura Naproxeno sódico + Lactose.

Amostra	Temperatura (°C) pico	Entalpia (J/g)	Característica	Evento
Naproxeno sódico + Lactose T <sub>0</sub>	62,6	-59,5	Endotérmico Alta intensidade	Desidratação
	102,3	-64,9	Endotérmico Alta intensidade	Desidratação
	151,2	-55,5	Endotérmico Alta intensidade	Perda de água de cristalização do excipiente
Naproxeno sódico + Lactose T <sub>30</sub>	64,5	-59,0	Endotérmico Alta intensidade	Desidratação
	101,7	-77,7	Endotérmico Alta intensidade	Desidratação
	151,4	-51,6	Endotérmico Alta intensidade	Perda de água de cristalização do excipiente

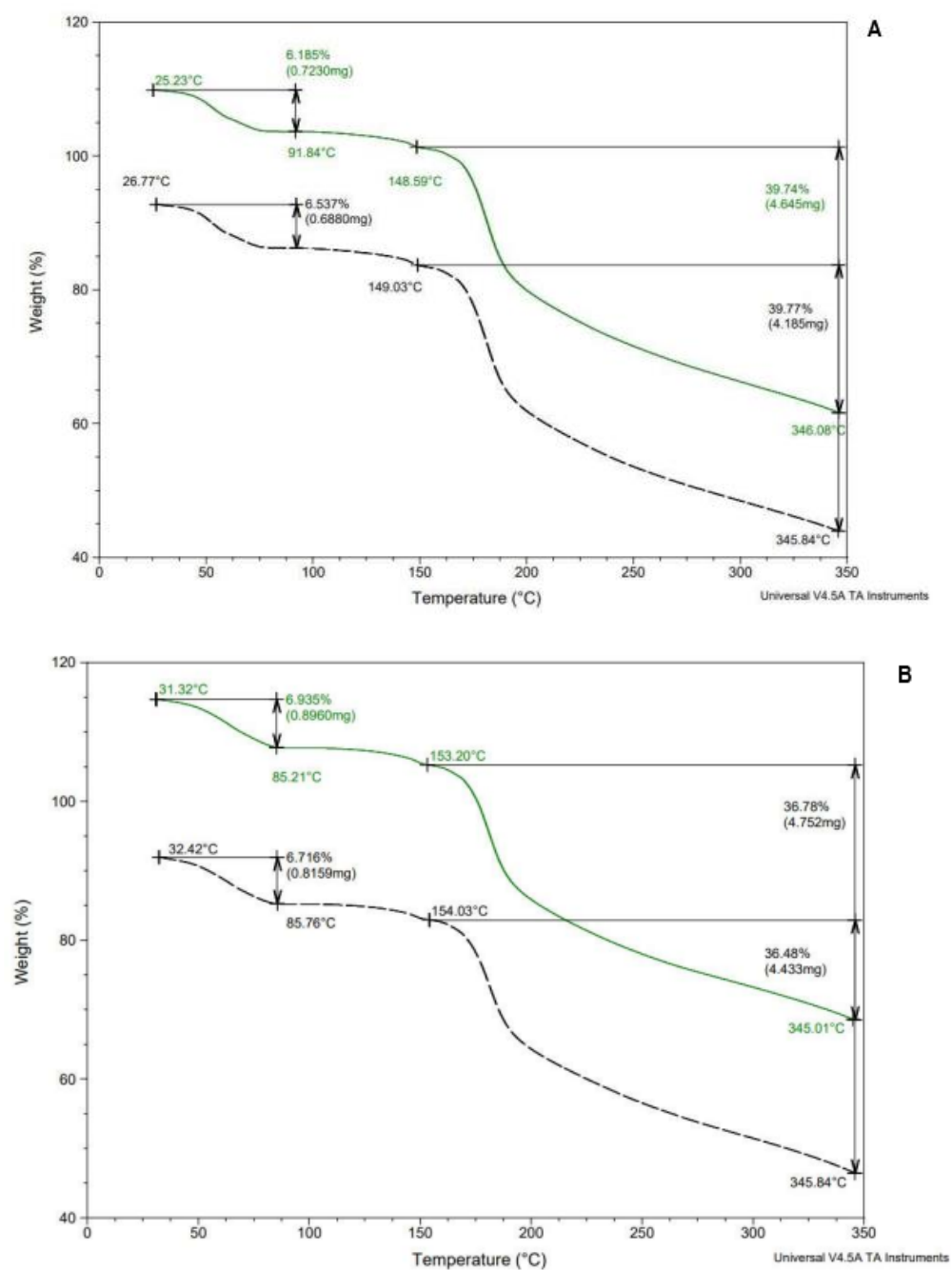
A comparação das curvas TG obtidas para a lactose a T30 (**Figura 50C**) com as curvas obtidas a T0 (**Figura 50D**) evidencia que não sofreram mudanças significativas, demonstrando que a lactose se apresentou estável no tempo T30.

**Figura 50** - Curvas experimentais de TG. A: naproxeno sódico em T0; B: naproxeno sódico em T30; C: lactose em T0; D: lactose em T30.



As amostras das misturas binárias não sofreram alterações significativas após os 30 dias em câmara de estabilidade nas condições especificadas, como pode ser constatado quando se comparam as curvas TG apresentadas na **Figura 51A** (tempo T0) com aquelas da **Figura 51B** (tempo T30). Esses resultados demonstram que a mistura binária naproxeno sódico + lactose permaneceu estável nas condições aqui investigadas, ou seja, o comportamento térmico observado em T0 repete-se em T30, conforme **Tabela 41**. Observa-se que o primeiro evento térmico da mistura (tanto em T0 quanto em T30) equivale à junção dos dois eventos de desidratação do ativo naproxeno sódico com o evento de perda de água de cristalização da lactose. Entretanto, não é possível atribuir o segundo evento da mistura a nenhum evento observado nas substâncias puras. Isto corrobora com os resultados dos diagramas de DSC.

**Figura 51** - Curvas experimentais de TG das amostras da mistura binária naproxeno sódico + lactose no tempo T0 (A) e T30 (B).



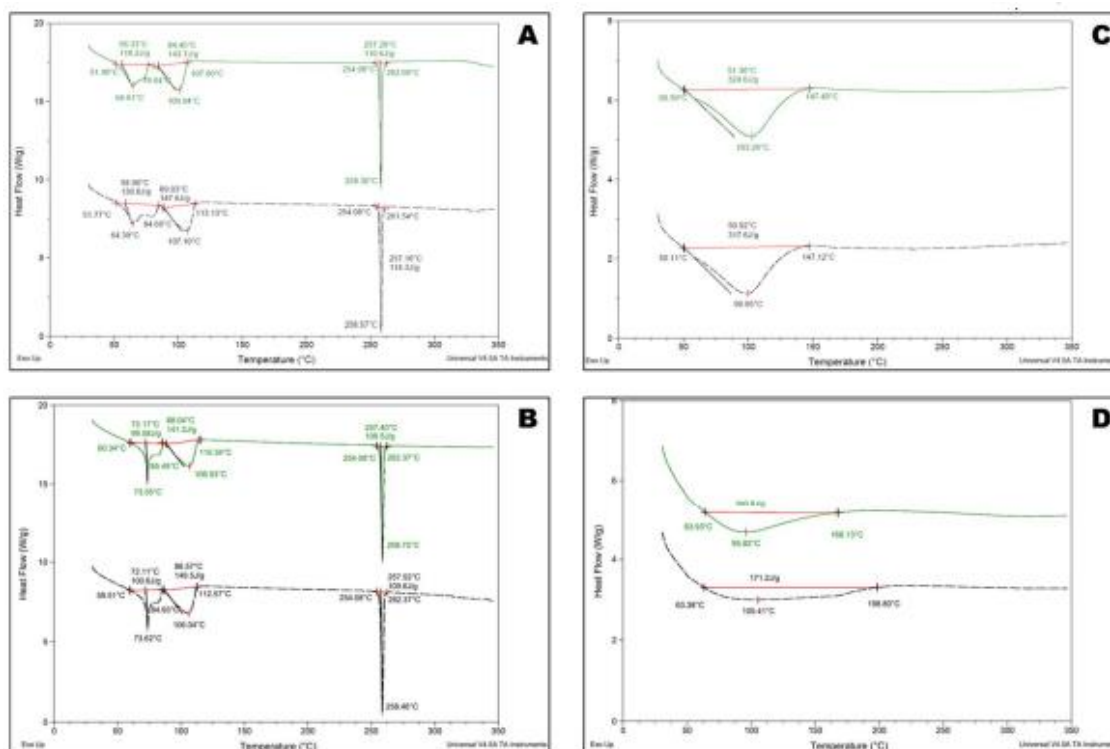
**Tabela 41** - Resultados das médias dos ensaios TGA para a mistura Naproxeno sódico + Lactose.

Amostra	Faixa de Temperatura (°C)	% Perda de massa	Evento
Naproxeno sódico + Lactose T <sub>0</sub>	26,0 – 92,0	6,3	Desidratação
	148,8 – 345,9	39,7	Produto da interação
Naproxeno sódico + Lactose T <sub>30</sub>	31,8 – 85,5	6,8	Desidratação
	153,6 – 345,4	36,6	Produto da interação

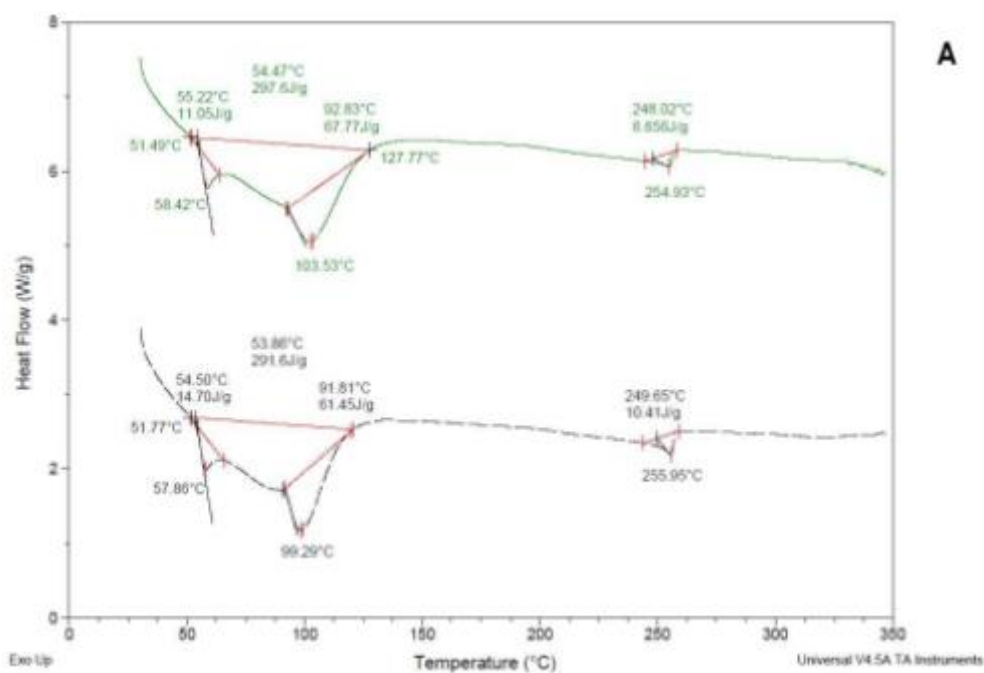
O excipiente polivinilpirrolidona não se mostrou estável na janela de análise após incubação de 30 dias, apresentando comportamento térmico distinto do evidenciado em T<sub>0</sub>, conforme demonstrado na **Figura 52C e 52D**. Em T<sub>30</sub>, o comportamento térmico da mistura naproxeno sódico + polivinilpirrolidona (**Figura 53**) é distinto dos apresentados pelas substâncias puras (**Figura 52**), evidenciando que ocorreu interação química entre o IFA NAP Na<sup>+</sup> e o excipiente polivinilpirrolidona.

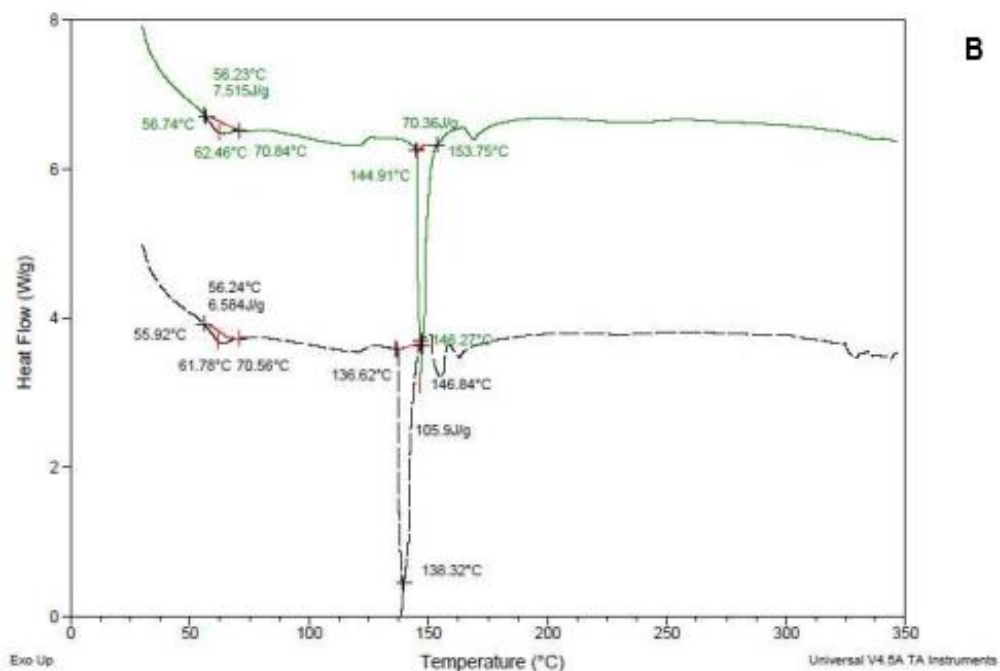


**Figura 52** - Diagramas experimentais de DSC. A: naproxeno sódico em T0; B: naproxeno sódico em T30; C: polivinilpirrolidona em T0; D: polivinilpirrolidona em T30.



**Figura 53** - Diagramas experimentais de DSC das amostras da mistura binária naproxeno sódico + polivinilpirrolidona no tempo T0 (A) e T30 (B).



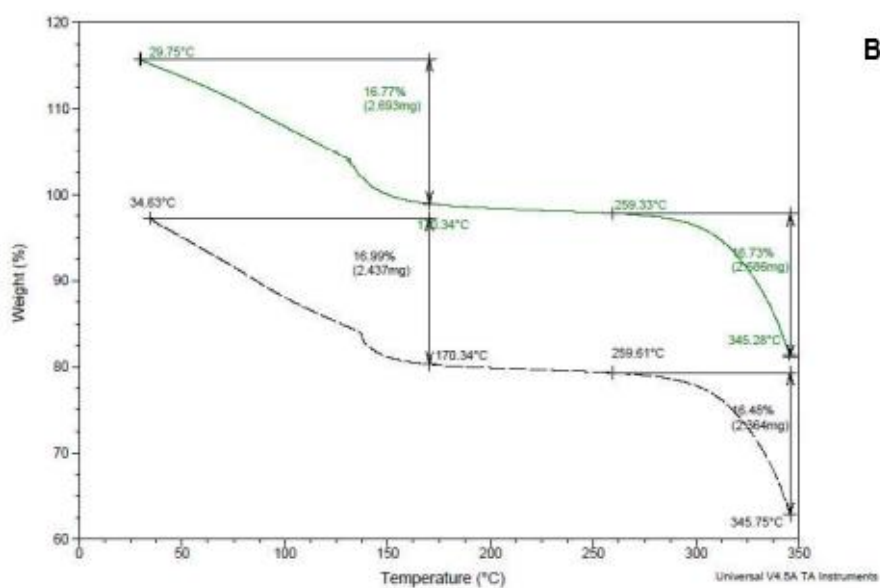
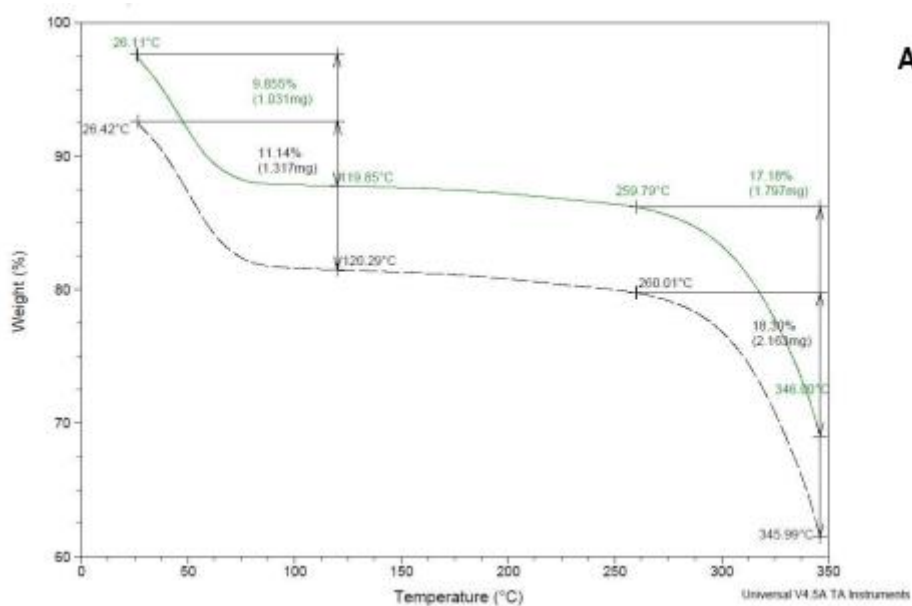


**Tabela 42** - Resultados das médias dos ensaios DSC para a mistura Naproxeno sódico + Polivinilpirrolidona.

Amostra	Temperatura (°C) pico	Entalpia (J/g)	Característica	Evento
Naproxeno sódico + Polivinilpirrolidona T <sub>0</sub>	58,1	-294,6	Endotérmico Média intensidade	Desidratação
	101,4			
	248,8	-8,5	Endotérmico Baixa intensidade	Fusão do ativo
Naproxeno sódico + Polivinilpirrolidona T <sub>30</sub>	62,1	-7,0	Endotérmico Média intensidade	Desidratação
	142,3	-88,1	Endotérmico Baixa intensidade	Fusão do ativo

As curvas de TG correspondentes à análise da amostra da mistura binária naproxeno sódico + polivinilpirrolidona no tempo T<sub>0</sub> (**Figura 54A**) e T<sub>30</sub> (**Figura 54B**) também demonstram a degradação térmica da mistura, conforme **Tabela 43**.

**Figura 54** - Curvas experimentais de TG das amostras da mistura binária naproxeno sódico + polivinilpirrolidona no tempo T0 (A) e T30 (B).



**Tabela 43** - Resultados das médias dos ensaios TGA para a mistura Naproxeno sódico + Polivinilpirrolidona

Amostra	Faixa de Temperatura (°C)	% Perda de massa	Evento
Naproxeno sódico +	26,2 – 120,1	10,5	Desidratação
Polivinilpirrolidona T <sub>0</sub>	259,9 – 345,9	17,7	Produto da interação
Naproxeno sódico +	32,2 – 170,3	16,9	Desidratação
Polivinilpirrolidona T <sub>30</sub>	259,5 – 345,5	16,6	Produto da interação

É importante ressaltar que a mistura binária do ativo com todos os outros excipientes resultou em interações físicas pouco significativas e que foram responsáveis pelo deslocamento e alteração na energia do evento de fusão atribuído ao NAP Na<sup>+</sup>. As interações físicas entre excipientes e ativos, dentro de uma formulação, são perfeitamente aceitáveis e compreensíveis, tendo em vista que essas alterações são inerentes à formulação e o estudo de compatibilidade tem por objetivo justamente avaliar o impacto desses eventos na estabilidade da formulação e, por conseguinte, na estabilidade do produto.

Com base nos resultados das curvas TG, sugere-se que existe a ocorrência de interação química entre o naproxeno sódico e os excipientes lactose e polivinilpirrolidona. Esta conclusão está em plena concordância com a dos resultados obtidos com os diagramas de DSC e, ambas, complementam-se. As interações físicas observadas foram de baixa intensidade e demonstram interações aceitáveis para a formulação.

## 6 CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados pelo método indicativo de estabilidade é possível concluir que o naproxeno sódico IFA e na formulação em comprimidos é estável, devido a alternância de duplas ligações da molécula e a presença de grupos doadores de elétrons, que possibilita as estruturas de ressonâncias. O poder discriminativo do método foi comprovado quando as amostras foram expostas a condições drásticas de hidrólise alcalina e ácida.

O método desenvolvido foi validado seguindo a RDC 166/2017 e pode ser considerado seletivo, linear na faixa de concentração de 0,8 a 2,4 µg/mL, preciso, exato e robusto. A partir dos resultados obtidos pelo estudo de degradação forçada, pode-se afirmar que as impurezas conhecidas, denominadas compostos relacionados A e L e metil éster, bem como as impurezas desconhecidas TRR 0,34; TRR 0,69; TRR 0,73; TRR 0,90; TRR 1,14; TRR 1,64; TRR 1,71; TRR 1,81, TRR 2,00 e TRR 2,10 devem ser monitoradas nos estudos de estabilidade. O método a ser utilizado permite a quantificação das impurezas conhecidas sem a necessidade de injeção de padrão de referências dos mesmos, devido aos fatores de resposta encontrados.

As análises térmicas de compatibilidade fármaco-excipientes demonstraram interações entre o naproxeno sódico e a lactose e entre o naproxeno sódico e a polivinilpirrolidona. Porém, essas interações observadas foram de baixa intensidade e demonstram-se aceitáveis para a formulação.

## REFERÊNCIAS

- ABRANTES, Cátia G.; DUARTE, Dinah; REIS, Catarina P. *An overview of pharmaceutical excipients: safe or not safe?*. Journal of pharmaceutical sciences, v. 105, n. 7, p. 2019-2026, 2016.
- AOAC INTERNATIONAL. *Guidelines for Standard Method Performance Requirements*. EUA, 2016.
- BAERTSCHI, Steven W.; ALSANTE, Karen M.; REED, Robert A. (Ed.). *Teste de estresse farmacêutico: prevenendo a degradação de drogas*. CRC Press, 2016.
- BAKSHI, Monika; SINGH, Saranjit. *Development of validated stability-indicating assay methods—critical review*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v. 28, n. 6, p. 1011-1040, 2002.
- BLESSY, M. R. D. P. et al. *Development of forced degradation and stability indicating studies of drugs—A review*. Journal of Pharmaceutical Analysis, v. 4, n. 3, p. 159-165, 2014.
- BRASIL. Farmacopeia Brasileira, 6ª edição. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2019.
- BRASIL. GUIA nº 10, versão 1. *Guia para tratamento estatístico da validação analítica*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 12 de setembro de 2017.
- BRASIL. GUIA nº 4, versão 1. *Guia para obtenção do perfil de degradação, e identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. 04 de dezembro de 2015.
- BRASIL. *Resolução da diretoria colegiada nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Poder Executivo, Brasília, DF, Diário Oficial da União, 25 jun. 2017.
- BRASIL. *Resolução da diretoria colegiada nº 53, de 4 de dezembro de 2015. Estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências*. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Poder Executivo, Brasília, DF, Diário Oficial da União, 04 dez. 2015.
- BRUNTON, L.L; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, B.C. Goodman&Gilman *As bases farmacológicas da terapêutica*. 12. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012. 2112 p.
- CALDEIRA, Alisson Samuel Portes et al. *Estudo de degradação forçada, desenvolvimento e validação de método analítico de teor e substâncias relacionadas para avaliação da estabilidade de comprimidos de leflunomida*. Dissertação (Mestrado em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica) – Instituto de Tecnologia em Farmacos, Rio de Janeiro, 2014.

CHADHA, Renu; BHANDARI, Swati. *Drug–excipient compatibility screening—role of thermoanalytical and spectroscopic techniques*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v. 87, p. 82-97, 2014.

CIONE, A. P.; TONHI, E; SILVA P. *Stability Indicating Methods*. Quality Control of Herbal Medicines and Related Areas, Yukihiro Shoyama (Ed.), ISBN: 978-953-307-682-9, 2007.

COLLINS CH, Braga GL, Bonato PS. *Fundamentos de Cromatografia*. Campinas: Editora Unicamp, 1ª edição; 2006.

DI MARTINO, Piera et al. *Physical characterization of naproxen sodium hydrate and anhydrate forms*. European journal of pharmaceutical sciences, v. 14, n. 4, p. 293-300, 2001.

DRUGBANK, *Naproxen*. Disponível em <<https://go.drugbank.com/drugs/DB00788>> Acesso em 27 de novembro de 2022.

ELSINGHORST, Paul W. et al. *An LC–MS/MS procedure for the quantification of naproxen in human plasma: Development, validation, comparison with other methods, and application to a pharmacokinetic study*. Journal of Chromatography B, v. 879, n. 19, p. 1686-1696, 2011.

EUROPE. European Pharmacopoeia 9.0. *Naproxen Sodium*. Strasbourg: EDQM, 2019. p.3126-3128.

GREEN, Gary A. *Understanding NSAIDs: from aspirin to COX-2*. Clinical cornerstone, v. 3, n. 5, p. 50-59, 2001.

ICH. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, *Guideline Q1A(R2) – Stability Test of New Drug Substances and Products*, Geneva, 2003.

ICH. International Conference on Harmonisation. *Stability testing of active pharmaceutical ingredients and finished pharmaceutical products*, 2012.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial DOQ-CGCRE-OO8, revisão 04. *Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos*. Rio de Janeiro, 2011.

KUMMER, Carmen Luize; COELHO, Tereza Cristina RB. *Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais*. Revista Brasileira de Anestesiologia, v. 52, p. 498-512, 2002.

LEITE, E., G. *Estabilidade: importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia de fármacos e medicamentos*. 2005. 199f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, 2005.

MALDANER, Liane; JARDIM, Isabel Cristina Sales Fontes. *O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência*. Química nova, v. 32, p. 214-222, 2009.

MELGAÇO, Sarah Suyanne Carvalho et al. *Nefrotoxicidade dos anti-inflamatórios não esteroidais*. Medicina (Ribeirão Preto), v. 43, n. 4, p. 382-390, 2010.

MURA, P. et al. *Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage microscopy and scanning electron microscopy*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v. 18, n. 1-2, p. 151-163, 1998.

NOVÁKOVÁ, Lucie; MATYSOVÁ, Ludmila; SOLICH, Petr. *Advantages of application of UPLC in pharmaceutical analysis*. Talanta, v. 68, n. 3, p. 908-918, 2006.

QUADRI, Salma S. et al. *Review on Stability Indicating Assay Methods (SIAMs)*. PharmaTutor, v. 2, n. 8, p. 16-31, 2014.

RESCK, Rodrigo Rodrigues et al. *Desenvolvimento e validação de método indicativo de estabilidade por HPLC-DAD para a determinação de cloxazolam e seus produtos de degradação*. 2019.

ROJEK, Barbara; WESOLOWSKI, Marek. *Compatibility studies of hydrocortisone with excipients using thermogravimetric analysis supported by multivariate statistical analysis*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 127, n. 1, p. 543-553, 2017.

ROLIM, Larissa Araújo. *Estudo de degradação do fármaco benznidazol utilizado no combate a doença de chagas por hidrólise, oxidação, fotólise e termodegradação*. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

SILVA, K. E. R. et al. *Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica*. Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada, v. 30, n. 2, 2009.

THE UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP). 44 ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2021.

TODD, Peter A.; CLISSOLD, Stephen P. *Naproxen*. Drogas, v. 40, n. 1, pág. 91-137, 1990.

VENKATARAO, Papanaboina; NAGENDRA KUMAR, Morrisetty; RAVI KUMAR, Maram. *Novel validated stability-indicating UPLC method for the estimation of naproxen and its impurities in bulk drugs and pharmaceutical dosage form*. Scientia Pharmaceutica, v. 80, n. 4, p. 965-976, 2012.

VERMA, Rajan K.; GARG, Sanjay. *Selection of excipients for extended release formulations of glipizide through drug–excipient compatibility testing*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v. 38, n. 4, p. 633-644, 2005.

WHO. *Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: thirty-ninth report*. World Health Organization, 2005.



WU, Zimei. *Drug stability testing and formulation strategies*. Pharmaceutical Development and Technology, v. 23, n. 10, p. 941-941, 2018.

YODEN, W. J.; STEINER, E. H. *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists*. 48th ed. Arlington: AOAC, 88 p., 1975.