

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA
CAMPUS URUGUAIANA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

JOSÉ PEDRO ETCHEPARE CASSOL

**CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE
DEGRADAÇÃO A PARTIR DE MATRIZ DE LIBERAÇÃO OSMÓTICA
CONTENDO O FÁRMACO PALIPERIDONA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Uruguaiiana
2015**

JOSÉ PEDRO ETCHEPARE CASSOL

**CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE
DEGRADAÇÃO A PARTIR DE MATRIZ DE LIBERAÇÃO OSMÓTICA
CONTENDO O FÁRMACO PALIPERIDONA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para o grau de MESTRE em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Andreas Sebastian Loureiro Mendez

Coorientador: Prof. Dr. Clésio Soldateli Paim

**Uruguaiana
2015**

JOSÉ PEDRO ETCHEPARE CASSOL

**CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DE PRODUTOS DE
DEGRADAÇÃO A PARTIR DE MATRIZ DE LIBERAÇÃO OSMÓTICA
CONTENDO O FÁRMACO PALIPERIDONA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Pampa (UNIPAMPA), como requisito parcial para o grau de MESTRE em Ciências Farmacêuticas.

Área de concentração: Controle de qualidade de fármacos, medicamentos e cosméticos.

Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em: 17/07/2015.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Andreas Sebastian Loureiro Mendez
Orientador

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - UNIPAMPA

Prof. Dr. Marcelo Donadel Malesuik
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas – UNIPAMPA

Prof. Dr. Elton Luís Gasparotto Denardin
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica – UNIPAMPA

AGRADECIMENTOS

A Deus;

A minha família, por todo apoio;

Ao prof. Dr. Andreas, pela orientação e ensinamentos recebidos;

Ao prof. Dr. Clésio, pela coorientação e atenção nos experimentos finais do trabalho;

Ao Laboratório de Desenvolvimento e Controle de Qualidade de Medicamentos (LCDQ) pela infraestrutura necessária para realização deste trabalho;

À FAPERGS e à UNIPAMPA, pela ajuda financeira;

À UFRGS, pela realização de uma etapa do trabalho;

Ao Luiz, ao Everson e ao Fábio, pela amizade, convívio e por toda a ajuda com os experimentos;

À Gabriela e à Natana, pela amizade, companheirismo e as tardes de conversa e estudos no laboratório;

À Liara, pela amizade e as caronas para realização dos experimentos à noite;

À Marí, pela amizade e desabafos quando os experimentos não davam certo;

Aos amigos do LDCQ, pelo convívio, amizade, companheirismo, ensinamentos e risadas durante toda a realização deste trabalho;

Aos demais professores do PPGCF, pelos ensinamentos transmitidos;

Aos demais colegas de mestrado, pelo convívio;

A todos, que de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho.

RESUMO

A paliperidona, principal metabólito ativo da risperidona, é um antipsicótico atípico da classe química dos derivados benzisoxazóis. Está disponível no mercado na forma de comprimidos de liberação osmótica oral controlada, do tipo OROS[®] Push-PullTM. Esses sistemas apresentam uma membrana semipermeável com dois orifícios feitos a laser numa das extremidades, e um polímero que se expande à medida que o líquido estomacal atravessa a membrana, ajudando na liberação do fármaco, que está presente em dois compartimentos, sendo um menos concentrado para que haja uma liberação inicial mais rápida. Há poucos estudos de estabilidade da paliperidona, principalmente em sistema OROS[®]. O objetivo do presente trabalho foi caracterizar a substância química de referência utilizada, avaliar por CLAE a estabilidade da paliperidona testando diferentes condições forçadas (ácida, alcalina, oxidativa, térmica e fotolítica), estabelecer a decomposição cinética das condições oxidativa, fotolítica e térmica, com foco na ordem de reação, constante de reação (k), tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) e $t_{90\%}$, e identificar os produtos de degradação majoritários por CLUE-EM. A paliperidona apresentou-se instável em condição oxidativa (concentração residual em 72h = 83,49%), fotolítica (concentração residual em 24h = 24,64%) e térmica (concentração residual em 96h = 30,12%), com cinética de primeira ordem. O fármaco mostrou-se estável em meio ácido, corroborando com a estratégia de uso do HCl 0,0100 mol/L como solvente para obtenção do fármaco a partir desta matriz. O método de extração direta sem rompimento da bomba osmótica apresentou-se mais eficiente do que a ação de rompimento prévio do comprimido, podendo haver perda do fármaco na realização deste processo. As análises por CLUE-EM permitiram a identificação de três produtos de degradação: m/z 365, denominado ácido (Z)-2-(((Z)-aminometileno)amino)metileno)-4-(4-(2-(aminoxi)-4-fluorobenzil) piperidin-1-il) butanoico, detectado em condições fotolítica e térmica; e por outra rota reacional, m/z 233 denominado 3-(1-etilpiperidin-4-il)-2,3-diidrobenzo[d]isoxazol e m/z 217, denominado (E)-6-((1-etilpiperidin-4-il)metileno)ciclohexa-2,4-dien-1-ona, detectados em todas condições do ensaio, demonstrando a importância da rota de decomposição do fármaco.

Palavras-chave: paliperidona; sistema osmótico; estabilidade; cinética de degradação; produtos de degradação.

ABSTRACT

Paliperidone, the main active metabolite of risperidone, is an atypical antipsychotic of the chemical class of benzisoxazoles derivatives. It is commercially available as osmotic tablets, OROS[®] (osmotic release oral system) Push-Pull[™] type. This system has a semipermeable membrane containing two holes on one extremity, and an expansible polymer that helps the drug release according to concentration. Few studies about stability of paliperidona are reported, in special for OROS[®] system. The present study aimed to characterize the reference standard, to determine the drug on stability assay by HPLC, testing different forced conditions (acid, alkaline, oxidative, thermal and photolytic), to establish the kinetic decomposition of oxidative, photolytic and thermal conditions, with focus on reaction order, reaction constant (*k*), half-life time ($t_{1/2}$) and $t_{90\%}$, and to identify the major degradation products by UPLC-MS. The sample preparation was evaluated comparing the disruption of tablet previously to contact with solvent on ultrasonic bath, and the treatment with solvent directly, avoiding the disruption. Paliperidone was instable when submitted to oxidative (residual concentration in 72h = 83,49%), photolytic (residual concentration in 24h = 24,64%) and thermal conditions (residual concentration in 96h = 30,12%), showing kinetics data in first order. The drug presented stability in acid medium, HCl 0,0100 mol/L, being in accordance with the procedure established for sample treatment with this solvent. For sample treatment, previous to analysis, the results indicated more reproducibility on quantitative data for samples treated directly. The analyses by UPLC-MS allowed to identify three degradation products: *m/z* 365, being named as (Z)-2-(((Z)-aminomethylene)amino)methylene)-4-(4-(2-(aminooxy)-4-fluorobenzyl)piperidin-1-yl)butanoic acid, detected in photolytic and thermal conditions; and another reaction route, *m/z* 233, being named as 3-(1-ethylpiperidin-4-yl)-2,3-dihydrobenzo[d]isoxazole, and *m/z* 217, named as (E)-6-((1-ethylpiperidin-4-yl)methylene)cyclohexa-2,4-dien-1-one, detected in all conditions assayed, demonstrating the importance of this decomposition route for this drug.

Keywords: paliperidone; osmotic system; stability; degradation kinetics; degradation products.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da paliperidona	17
Figura 2 - Estrutura química da principal impureza, oriunda da decomposição oxidativa	21
Figura 3 - Estruturas químicas de produtos de degradação da paliperidona em condições de estresse.....	23
Figura 4 - Comprimido OROS [®] tipo Push-Pull [™] da paliperidona.....	25
Figura 5 – Espectro UV da SQR de paliperidona, na concentração de 60 µg/mL, dissolvida em HCl 0,1000 mol/L em banho de ultrassom por 60 min	30
Figura 6 – Espectro na região do IV da SQR da paliperidona	31
Figura 7 – Curva de aquecimento obtida por DSC para a paliperidona	33
Figura 8 – Espectro de RMN ¹ H da SQR da paliperidona em metanol deuterado.....	34
Figura 9 - Espectro de RMN ¹³ C da SQR da paliperidona em metanol deuterado	36
Figura 10 - Cromatograma obtido por CLAE na análise de paliperidona SQR em HCl 0,0100 mol/L, determinada na concentração de 30 µg/mL (A) e obtida de comprimidos OROS [®] , determinada na concentração de 24 µg/mL (B). Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu [®] Shim-Pack C ₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm.....	49
Figura 11 - Cromatograma obtido por CLAE da análise da amostra de paliperidona extraída do comprimido OROS [®] em HCl 0,0100 mol/L e colocada em H ₂ O ₂ 18% por 1h (A) e 72h (B). Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu [®] Shim-Pack C ₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm.....	50
Figura 12 - Cromatograma obtido por CLAE da análise da amostra de paliperidona extraída do comprimido OROS [®] em HCl 0,0100 mol/L, exposta à luz UVA (352 nm) pelo tempo de	

24h. Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu® Shim-Pack C₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm..... 51

Figura 13 - Cromatograma obtido por CLAE da análise da amostra de paliperidona extraída do comprimido OROS® em HCl 0,0100 mol/L, exposta a degradação térmica à 80°C pelo tempo de 48h. Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu® Shim-Pack C₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm 52

Figura 14 - Cromatograma obtido por CLAE da análise da amostra de paliperidona extraída do comprimido OROS® em HCl 0,0100 mol/L, exposta a degradação ácida com HCl 1 mol/L pelo tempo de 8h. Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu® Shim-Pack C₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm 53

Figura 15 - Cromatograma obtido por CLAE da análise da amostra de paliperidona extraída do comprimido OROS® em HCl 0,0100 mol/L, exposta a degradação alcalina com NaOH 1 mol/L pelo tempo de 72h. Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu® Shim-Pack C₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm..... 54

Figura 16 - Gráficos obtidos a partir dos dados da Tabela 5 para determinação da ordem de reação junto à degradação oxidativa da paliperidona. 55

Figura 17 - Gráficos obtidos a partir dos dados da Tabela 6 para determinação da ordem de reação junto à fotodegradação UVA da paliperidona. 57

Figura 18 - Gráficos obtidos a partir dos dados da Tabela 7 para determinação da ordem de reação junto à degradação térmica a 80°C da paliperidona. 59

Figura 19 - Espectro de massas referente à análise da paliperidona obtida de comprimidos OROS®. Análise em CLUE-EM Q-TOF, ESI positivo. 62

Figura 20 - Espectro de massas referente à análise da paliperidona obtida a partir de amostra submetida à degradação oxidativa por 72 horas. Análise em CLUE-EM Q-TOF, ESI positivo. 63

Figura 21 - Espectro de massas referente à análise da paliperidona obtida a partir de amostra submetida à degradação fotolítica por 24h. Análise em CLUE-EM Q-TOF, ESI positivo. 64

Figura 22 - Espectro de massas referente à análise da paliperidona obtida a partir de amostra submetida à degradação térmica por 96 horas. Análise em CLUE-EM Q-TOF, ESI positivo. 65

Figura 23 - Proposição das estruturas químicas dos produtos de degradação formados a partir da decomposição da paliperidona em amostras obtidas da matriz OROS[®], em sugestão de rotas reacionais. 67

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Frequências das principais bandas de absorção da paliperidona e respectivas atribuições.....	32
Tabela 2 - Atribuições do espectro de RMN ¹ H da SQR da paliperidona em metanol deuterado	35
Tabela 3 - Atribuições do espectro de RMN ¹³ C da SQR da paliperidona em metanol deuterado	37
Tabela 4 - Teor (%) de paliperidona nas amostras processadas por diferentes metodologias de preparo de amostra (triplicata por procedimento)	48
Tabela 5 - Valores de teor residual (%), logC e 1/C obtidos a partir da análise de amostras de paliperidona em meio ácido submetidas à degradação oxidativa com H ₂ O ₂ a 18%.....	54
Tabela 6 - Valores de teor residual (%), logC e 1/C obtidos a partir da análise de amostras de paliperidona em meio ácido expostas à luz UVA	56
Tabela 7 - Valores de teor residual (%), logC e 1/C obtidos a partir da análise de amostras de paliperidona em meio ácido submetidas à degradação térmica à 80°C.....	58
Tabela 8 - Constante de reação (k), t _{90%} e tempo de meia-vida (t _{1/2}) calculados para as condições de degradação forçada, considerando a ordem de reação.....	60
Tabela 9 - Valores de teor de paliperidona em soluções de análise a 24 µg/mL, em ensaio por CLAE, avaliando a estabilidade em ensaio de rotina, à temperatura ambiente e geladeira	61

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

9OHRisp – 9-hidroxisperidona
APG – Antipsicóticos de primeira geração
ASG – Antipsicóticos de segunda geração
ATR – Attenuated total reflectance
CLAE – Cromatografia líquida de alta eficiência
CLUE - Cromatografia líquida de ultra eficiência
EM – Espectrometria de massas
DAD – Detector de arranjo de diodos
FDA – Food and Drug Administration
H₂O₂ – Peróxido de hidrogênio
HCl – Ácido clorídrico
HPLC – High performance liquid chromatograph
HPTLC –High performance thin-layer chromatography
ICH – International Conference on Harmonization
IV –Infravermelho
k – constante de degradação
LC-MS – Liquid chromatograph – Mass spectrometry
m/z – massa/carga
MeOD – metanol deuterado
MME – microemulsões mucoadesivas
MS – Mass spectrometric
NaOH – Hidróxido de sódio
OROS[®] - Osmotic release oral system
PLP – Paliperidona
r – Coeficiente de correlação
RMN – Ressonância Magnética Nuclear
SQR – Substância química de referência
USP – United States Pharmacopeia
UV – Ultravioleta
UVA – Ultravioleta-A

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	ESQUIZOFRENIA	16
3.2	ANTIPSICÓTICOS	16
3.3	PALIPERIDONA	17
3.3.1	Descrição geral.....	18
3.3.2	Mecanismo de ação.....	18
3.3.3	Farmacocinética.....	19
3.3.4	Análise quantitativa e estudos de estabilidade	19
3.4	SISTEMA OROS®	24
CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO DA SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA (SQR) DE PALIPERIDONA		27
1	INTRODUÇÃO	28
2	SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA (SQR).....	28
3	IDENTIFICAÇÃO DA SQR	28
3.1	Faixa de fusão pelo método capilar	29
3.2	Espectrofotometria no ultravioleta (UV)	29
3.3	Espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV).....	30
3.4	Análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC)	32
3.5	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹ H (RMN ¹ H)	33
3.6	Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹³ C (RMN ¹³ C)	36
CAPÍTULO II – CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO DA PALIPERIDONA E PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO		38
1	INTRODUÇÃO	39
2	MATERIAIS E MÉTODOS.....	40
2.1	Equipamentos	40
2.2	Solventes	41
2.3	Amostras comerciais	41
2.4	SQR.....	42

2.5	Obtenção do fármaco a partir da matriz sintética (comprimidos OROS[®]).....	42
2.6	Condições cromatográficas.....	42
2.7	Condições de degradação forçada.....	43
2.7.1	Degradação oxidativa.....	43
2.7.2	Fotodegradação	44
2.7.3	Degradação térmica	44
2.7.4	Hidrólise ácida	44
2.7.5	Hidrólise alcalina.....	45
2.8	Estabilidade das soluções de análise	45
2.9	Cinética de degradação e determinação da ordem de reação	46
2.10	Identificação dos produtos de degradação	47
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
4	CONCLUSÕES	68
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
	ANEXOS	76

1 INTRODUÇÃO

Sendo um distúrbio mental causado por alguma disfunção inerente do cérebro e ocorrendo em cerca de 1% da população, a esquizofrenia é uma doença psicótica caracterizada por múltiplos sintomas que comprometem o raciocínio, as percepções, a emoção e a volição, tendo como principal tratamento o uso de fármacos antipsicóticos (PAGE et al., 2004; FINKEL; CUBEDDU; CLARK, 2010).

Os primeiros antipsicóticos disponíveis no mercado trouxeram grande benefício para pacientes com esquizofrenia, mostrando eficácia no combate aos sintomas psicóticos (ELKIS; LOUZÃ, 2008). Estes fármacos também são conhecidos como típicos ou convencionais (FINKEL; CUBEDDU; CLARK, 2010). Existem também os chamados atípicos, um termo não muito esclarecido, mas referente à diminuição dos efeitos colaterais motores causados pelos típicos, como os efeitos extrapiramidais. Neste grupo estão a clozapina, a olanzapina, a risperidona e a paliperidona (RANG et al. 2007; FINKEL; CUBEDDU; CLARK, 2010).

A paliperidona (PLP), principal metabólito ativo da risperidona, é um antipsicótico atípico de segunda geração (ASG) da classe dos derivados benzisoxasóis (VERMEIR et al., 2008). Foi aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) para o tratamento da esquizofrenia em 2006 e está disponível comercialmente com denominação Invega[®], na forma de comprimidos de liberação osmótica oral cujo controle de liberação ocorre via sistema que utiliza o OROS[®] do tipo Push-PullTM. Na formulação, apresenta-se como uma mistura racêmica de (+)(-)-paliperidona e seus enantiômeros se interconvertem, apresentando atividade farmacológica similar *in vitro* (FOWLER; BETTINGER; ARGO, 2008; GREEN, 2009). Esse tipo de sistema de liberação permite a presença do medicamento na corrente sanguínea nas 24h do dia, diminuindo os picos de flutuação plasmática comuns em fármacos que utilizam o sistema de liberação imediata (YANG; PLOSKER, 2007).

O sistema OROS[®] é o sistema pioneiro de bomba osmótica desenvolvido pela *Alza Corporation* (Vacaville - CA, EUA). Esse tipo de forma farmacêutica apresenta uma membrana semipermeável contendo dois orifícios em uma das extremidades. Internamente, apresenta um polímero expensor que funciona como agente osmótico, atraindo o líquido estomacal para dentro do comprimido, intumescendo-o. À medida que o líquido penetra, ocorre uma solubilização do fármaco, o que leva a um aumento da pressão interna,

intumescendo o polímero e, logo, a expulsão do primeiro solubilizado pelos orifícios superiores (ALLEN Jr; POPOVICH; ANSEL, 2007).

A estabilidade de produtos farmacêuticos depende de fatores ambientais, como temperatura, umidade e luz, e também outros relacionados ao próprio produto como propriedades físicas e químicas tanto do princípio ativo quanto dos excipientes farmacêuticos, forma farmacêutica e sua composição, processo de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagens (BRASIL, 2005). Alguns fatores também podem causar a degradação desses produtos, como incompatibilidades, oxidações, reduções, hidrólise e racemizações (NUDELMAN, 1975).

O estudo da cinética química de degradação tem como principais objetivos a obtenção experimental dos dados cinéticos, proposição do mecanismo de reação, planejamento dos experimentos necessários para confirmar as hipóteses propostas e o estabelecimento das condições para acelerar ou diminuir a velocidade da reação conforme a necessidade (NUDELMAN, 1975). Através dela, pode-se determinar a ordem da reação, que deverá orientar na condução dos resultados obtidos, permitindo o cálculo da constante de degradação (k), tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) e $t_{90\%}$ conforme a ordem obtida (CARSTENSEN; RHODES, 2007).

Na literatura, há poucos estudos de estabilidade da PLP em sistema OROS[®] e de seus produtos de degradação, o que propicia a investigação deste aspecto em um estudo mais amplo, permitindo a avaliação da estabilidade do fármaco frente a condições forçadas, o estudo da cinética de decomposição e a identificação dos produtos majoritários formados.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a SQR da PLP, avaliar a estabilidade do fármaco a partir da matriz em sistema OROS[®], determinar a cinética química de degradação em diferentes condições forçadas e propor as estruturas químicas dos produtos de degradação majoritários formados.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a SQR da PLP por faixa de fusão pelo método capilar, espectrofotometria na região do ultravioleta (UV), espectrofotometria na região do infravermelho (IV), análise térmica por calorimetria exploratória de varredura (DSC), ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e de carbono (RMN ¹³C).
- Comparar a eficiência da extração do fármaco a partir do sistema osmótico, testando-se a extração por ultrassom sem rompimento do comprimido e a extração após o rompimento;
- Avaliar a estabilidade da PLP em sistema OROS[®] a partir das condições de oxidação, fotodegradação, temperatura, hidrólise ácida e hidrólise alcalina;
- Determinar a cinética de degradação da PLP a partir das condições de degradação oxidativa, fotolítica e térmica;
- Avaliar a estabilidade das soluções de análise do fármaco em temperatura ambiente e geladeira;
- Identificar produtos de degradação obtidos em ensaio de estabilidade da PLP por LC-MS.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ESQUIZOFRENIA

Sendo um tipo particular de psicose, a esquizofrenia é um distúrbio mental causado por alguma disfunção inerente do cérebro que ocorre em cerca de 1% da população. Caracteriza-se por ilusões, alucinações (com frequência na forma de vozes) e distúrbios de fala ou pensamento, apresentando um forte componente genético e provavelmente reflete uma anormalidade bioquímica funcional, como a disfunção de neurônios dopaminérgicos mesolímbicos ou mesocorticais (FINKEL; CUBEDDU; CLARK, 2010). O esquizofrênico pode manifestar dois tipos de sintomas, que são denominados como positivos e negativos. Entre os positivos, aparecem as ideias de perseguição, achar que tem poderes paranormais e comportamento desorganizado. Já os negativos, perda de interesse, isolamento social e pobreza de fala (SADOCK; KAPLAN; SADOCK, 2007). O tratamento da esquizofrenia envolve o uso de medicamentos antipsicóticos (PAGE et al., 2004).

3.2 ANTIPSICÓTICOS

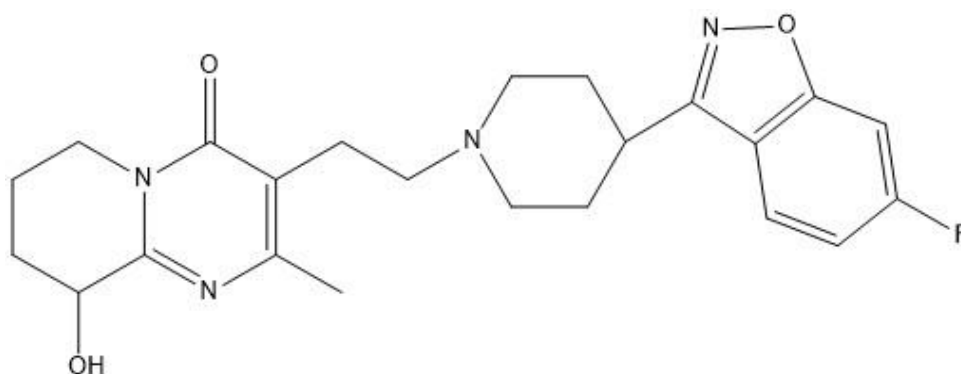
Os primeiros antipsicóticos descobertos em 1950, denominados “antipsicóticos de primeira geração” (APG) trouxeram grande benefício para pacientes com esquizofrenia, mostrando eficácia no combate aos sintomas psicóticos (ELKIS; LOUZÃ, 2008). Estes fármacos, também conhecidos como típicos ou convencionais, são inibidores competitivos em vários receptores, mas seus efeitos refletem o bloqueio competitivo dos receptores da dopamina. Entre os principais representantes desse grupo estão a clorpromazina, de baixa potência, e o haloperidol, de alta potência (FINKEL; CUBEDDU; CLARK, 2010). Existem também os ASG, também conhecidos como atípicos. O termo atípico é amplamente usado, mas não está bem esclarecido. Refere-se principalmente à diminuição da tendência em causar efeitos colaterais motores adversos, como os extrapiramidais comuns nos APG. A atividade desses fármacos podem ter relação com o bloqueio dos receptores da serotonina e da dopamina, e talvez outros. Entre os principais representantes do grupo dos ASG estão a clozapina, a

olanzapina, a risperidona e a paliperidona (RANG et al., 2007; FINKEL; CUBEDDU; CLARK 2010).

3.3 PALIPERIDONA

PLP (Figura 1), o maior metabólito ativo da risperidona, é um ASG da classe dos derivados benzisoxazóis (VERMEIR et al., 2008). Foi aprovado pelo FDA para o tratamento da esquizofrenia e perturbações esquizoafetivas em 2006, e está disponível no mercado na forma de comprimidos de liberação prolongada que utiliza o sistema OROS[®] nas concentrações de 3, 6, 9 e 12 mg em embalagens com 7 ou 28 comprimidos (JANSSEN-CILAG, 2007; FOWLER,; BETTINGER; ARGO, 2008; JANSSEN PHARMACEUTICALS, 2014). Esses sistemas permitem a administração de um comprimido ao dia, evitando os picos de flutuação plasmática comuns em medicamentos de liberação imediata e garantindo a presença do fármaco na corrente sanguínea ao longo das 24h do dia (YANG; PLOSKER, 2007).

Figura 1 - Estrutura química da paliperidona



Fonte: Adaptada de Sawant e Barge, 2013, p. 40

A PLP encontra-se como uma mistura racêmica de (+) e (-) e seus enantiômeros dextrógero e levógero se interconvertem, apresentando atividade farmacológica similar *in vitro* (FOWLER; BETTINGER; ARGO, 2008).

3.3.1 Descrição geral (EMEA, 2007; JANSSEN-ORTHO, 2007)

Apresenta-se como um pó cristalino branco amarelado, não higroscópico, praticamente insolúvel em água, NaOH 0,1 mol/L, hexano e etanol, e ligeiramente solúvel em HCl 0,1 mol/L.

- Nome químico: (RS)-3-[2-[4-(6-fluorobenzo[d]isoxazol-3-il)-1-piperidil]etil-7-hidroxi-4-metil-1,5-diazobicyclo[4.4.0]deca-3,5-dien-2-ona.
- Nome comercial: Invega[®] (*Janssen-Cilag Farmacêutica, São Paulo – SP, Brasil*)
- Fórmula molecular: C₂₃H₂₇FN₄O₃
- Peso molecular: 426,49g
- Faixa de fusão: 172-190°C
- Constantes de dissociação:
 - pka1 = 8,2 (anel piperidínico)
 - pka2 = 2,6 (anel pirimidínico)
- logP:
 - Molécula neutra em 1-octanol/solução aquosa tamponada pH 11,9 = 2,39.
 - Independente da forma em solução fosfato pH 7,0 = 1,02.

3.3.2 Mecanismo de ação

É um antagonista parcial de ação central de receptores D₂ da dopamina, com atividade antagonista serotoninérgica 5-HT_{2A} predominante. Também é ativa como um antagonista em receptores adrenérgicos α -1 e α -2 e histaminérgicos H₁, não tendo afinidade para receptores colinérgicos muscarínicos ou adrenérgicos β -1 e β -2 (JANSSEN-CILAG, 2007). O sistema OROS[®] é projetado para tentar manter a ocupação dos receptores D₂ em nível abaixo de 80%, para minimizar os efeitos adversos, principalmente os extrapiramidais (KAPUR; SEEMAN, 2001). A PLP de 6 mg nesse sistema ocupa entre 60 e 80% desses receptores (KARLSSON; DENCKER; NYBERG, 2005). O mecanismo de ação da PLP, como outros fármacos eficazes em esquizofrenia, é desconhecido. No entanto, foi proposto que a atividade farmacológica para a esquizofrenia seja realmente pelo antagonismo dos receptores citados anteriormente, podendo explicar os seus efeitos (JANSSEN-CILAG, 2007).

3.3.3 Farmacocinética

Após a ingestão de uma única dose de Invega[®], as concentrações plasmáticas sobem constantemente até atingir um pico de concentração plasmática (C_{máx}) em aproximadamente 24h após a administração. As concentrações do estado de equilíbrio são atingidas entre 4 e 5 dias com o uso de um comprimido ao dia na maioria dos pacientes. As características de liberação indicam uma flutuação mínima do pico, quando comparadas com medicamentos de liberação imediata (JANSSEN-CILAG, 2007). A biodisponibilidade absoluta da PLP é de 28% para a formulação OROS[®] e de 106% (completo) para a solução oral. A baixa biodisponibilidade para a formulação OROS[®] é provavelmente devido a uma maior fração liberada no cólon, onde a absorção é inferior (EMEA, 2007). A PLP é rapidamente distribuída, apresentando um volume aparente de distribuição de 478 L, e 74% se liga a proteínas plasmáticas (JANSSEN-CILAG, 2007). Há um metabolismo hepático limitado. Estudos *in vivo* sugerem um papel para o CYP450, CYP2D6 e CYP3A4, mas não há evidências *in vivo* de que essas isoenzimas representem um papel significativo no metabolismo (JUNG et al., 2005; JANSSEN-CILAG, 2007). O tempo de meia-vida da PLP é de 23h, sendo excretada praticamente inalterada, na própria urina (YANG; PLOSKER, 2007).

3.3.4 Análise quantitativa e estudos de estabilidade

Danel e colaboradores (2007) otimizaram um método analítico de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de modo a obter a separação enantiomérica semipreparativa de 9-hidroxisperidona (9-OHRisp), otimizando alguns parâmetros experimentais. A separação enantiomérica semipreparativa foi realizada utilizando coluna analítica Chiracel OJ (tris-4-metilbenzoato; 250 × 4,6mm, 10µm). Três métodos analíticos de separação foram desenvolvidos e validados para obter a quantificação da pureza enantiomérica. Os três métodos apresentaram desempenhos semelhantes em termos de separação dos enantiômeros e tempos de análise, sendo observadas purezas quase idênticas superior a 99,9% e igual a 98,9% para o (+)-9OHRisp e (-)-9OHRisp, respectivamente.

De Meulder e colaboradores (2008) relataram um método para a determinação de risperidona e dos enantiômeros da PLP por LC-MS/MS no plasma humano em concentração

abaixo de 0,2 ng/mL e em urina humana até 1 ng/mL. O método apresentou-se com boa sensibilidade e seletividade, além de precisão e exatidão adequadas, com excelente estabilidade dos analitos e tempos curtos de análise.

Danel e colaboradores (2009) propuseram avaliar a cinética de racemização sob várias condições, como a influência do pH, da temperatura, da natureza e concentração do tampão e a presença de cossolvente orgânico. Por último, o mecanismo de racemização foi investigado usando ensaio por ressonância magnética nuclear (RMN). Concluíram que condições fortemente ácidas (ou alcalinas, em menor medida) favorecem a racemização de 9-OHRisp. Com a comprovação de que a racemização não ocorre sob as condições fisiológicas, a estereosseletividade dos enantiômeros isolados de 9-OHRisp através das monocamadas Caco-2 (células de modelo *in vitro* para absorção intestinal de fármacos) pode ser estudada usando um método aquiral rápido de análise.

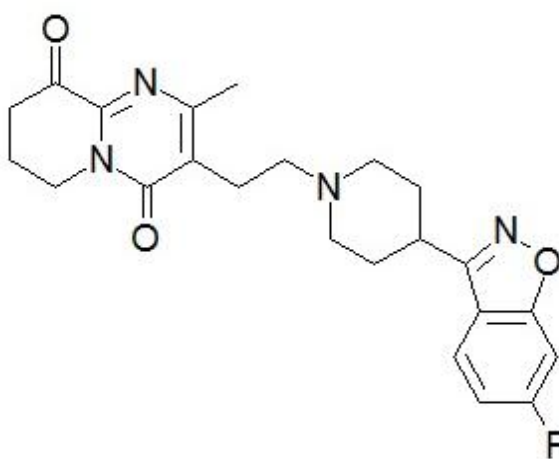
Um método por cromatografia em camada delgada de alta eficiência (HPTLC – High performance thin-layer chromatographic) para a determinação da PLP em matéria-prima, em comprimidos e em microemulsões mucoadesivas (MME), com aplicação estendida para estudos de difusão *in vitro* utilizando células de Franz e estudo de solubilidade, foi validado por Patel e colaboradores (2010). A separação por HPTLC ocorreu em placa de alumínio contendo sílica gel 60F254 usando metanol e acetato de etila como fase móvel. A quantificação foi realizada por análise densitométrica a 284 nm, ao longo de um intervalo de concentração de 100 a 600 ng/mL. O método mostrou-se sensível, específico e reprodutivo, podendo ser empregado convenientemente na análise de controle de qualidade de PLP matéria-prima, em comprimidos e formulações MME sem qualquer interferência dos excipientes.

Jandhav e colaboradores (2011) desenvolveram e validaram um método indicativo de estabilidade por CLAE para determinação de PLP utilizando sistema de fase reversa. As condições de degradação forçadas testadas foram hidrólise, fotólise, oxidação e termólise. Foi observada degradação por oxidação e hidrólise ácida. Cinco impurezas foram detectadas: três delas relacionadas ao processo de síntese, e duas, produtos de degradação oriundos das condições de estresse utilizadas. Para desenvolvimento, validação e estudo de estabilidade, foi usado um cromatógrafo a líquido de alta eficiência Waters[®] (Milford, MA, EUA) com detector UV-DAD, coluna Hypersil BDS C₁₈ termostatizada a 45°C. Como fase móvel, foi utilizada mistura de tampão de dihidrogeno-ortofosfato de amônio 0,05 mol/L e metanol em diferentes proporções, com fluxo de 1 mL/min e volume de injeção de 20 µL. A caracterização das impurezas foi feita por espectrometria de massas (EM), infravermelho por

transformada de Fourier (FT-IR) e espectroscopia de RMN ^1H . O método apresentou-se rápido, simples, seletivo, preciso, exato e robusto, podendo ser utilizado também para detecção de impurezas em formulações farmacêuticas.

Um método simples, rápido, preciso e indicativo de estabilidade foi desenvolvido por Bindu e colaboradores (2012) para análise de PLP e produtos de degradação em comprimidos OROS[®] e SQR. A separação cromatográfica ocorreu em um cromatógrafo a líquido de ultra eficiência Acquity[®], usando como fase móvel tampão fosfato de potássio diidratado 0,01 mol/L (pH 2,0) e acetonitrila:água (9:1) na proporção 84:16, fluxo isocrático de 0,45 mL/min, temperatura do forno de coluna mantida a 25°C e detecção por UV a 238 nm. Todas as 6 impurezas eluíram nos 5 minutos de análise. O fármaco foi submetido a condições drásticas de degradação por temperatura, luz, hidrólise e oxidação. Observou-se decomposição acentuada em condições oxidativas, sendo detectada a impureza ilustrada na Figura 2 como principal produto de degradação, apresentando peso molecular de 424 g. Pela análise realizada em detector DAD, foi demonstrada a especificidade do método na presença dos produtos de degradação.

Figura 2 - Estrutura química da principal impureza, oriunda da decomposição oxidativa



Fonte: Adaptado de Bindu e colaboradores., 2012, p. 369.

O primeiro método usando microextração em fase sólida (SPME) acoplada a LC-MS/MS utilizando modo orgânico polar em um estudo de biotransformação fúngica estereoseletiva para investigar a capacidade de fungos biotransformarem a risperidona em seu principal metabólito ativo, a PLP, foi descrito por Bocato e colaboradores (2012). A

separação cromatográfica ocorreu em sistema com fase móvel composta pela mistura de metanol:etanol (50:50, v/v) com 0,2% de trietilamina e fluxo de eluição de 0,8 mL/min. O processo de SPME foi realizado utilizando uma fibra de C₁₈ com tempo de extração de 30 min, e 5 min de tempo de dessorção da fase móvel. O fungo *Cunninghamella echinulata* foi capaz de biotransformar risperidona em (+)(-)-PLP resultando em 100% de excesso enantiomérico. A outra espécie, *Cunninghamella elegans*, porém, biotransformou em taxas diferentes.

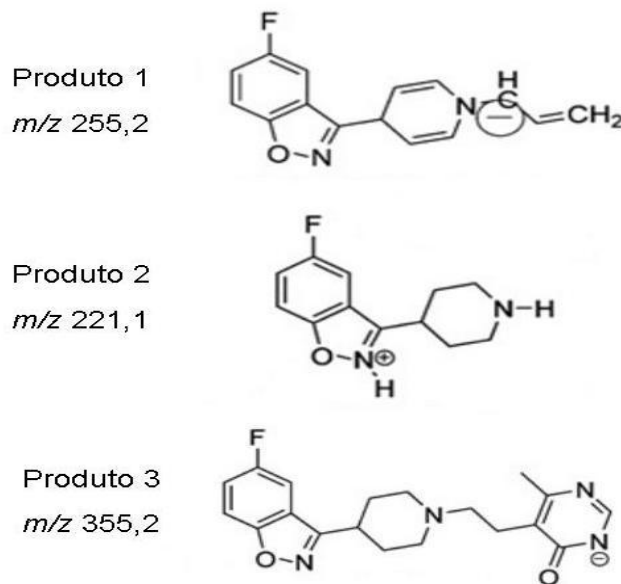
Barbosa e colaboradores (2012) propuseram um método indicativo de estabilidade para analisar o fármaco presente em sistema OROS[®] por CLAE em fase reversa. Vários solventes foram testados na extração do fármaco por banho de ultrassom ou agitador magnético, dentre eles metanol, acetonitrila, água, ácido clorídrico e hidróxido de sódio. Ácido clorídrico 0,01 mol/L e extração em banho de ultrassom foram as condições de escolha. O método foi desenvolvido utilizando cromatógrafo a líquido de alta eficiência Shimadzu[®], coluna Shim-Pack C₁₈, detector UV-DAD, fluxo de 1,0 mL/min, volume de injeção de 20 µL e detecção em 280 nm. A fase móvel foi composta de tampão fosfato de potássio 0,05 mol/L contendo 0,3% de trietilamina (pH ajustado para 3,8 com ácido orto-fosfórico 85%) e acetonitrila na proporção 70:30. O fármaco também foi submetido a condições de estresse com o objetivo de avaliar o desempenho do método na determinação do mesmo com a presença de seus produtos de degradação. O método mostrou-se simples, rápido, confiável e seguro para a quantificação da PLP. Os produtos de degradação formados durante o teste de estresse apresentaram-se bem separados do fármaco, mostrando que o método tem potencial de indicador de estabilidade.

Ansermot e colaboradores (2013) desenvolveram um sensível e seletivo método utilizando cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas em tandem (CLUE-MS/MS) para quantificação rápida de 10 fármacos psicotrópicos e seus metabólitos, incluindo a PLP, em plasma humano. A separação cromatográfica foi obtida em menos de 3,0 min utilizando como fase móvel tampão fosfato de amônio 10 mM pH 3,0 e acetonitrila em diferentes proporções com taxa de fluxo de 0,4 mL/min. Os compostos foram quantificados em espectrômetro de massas quadrupolo operando no modo positivo de ionização por electrospray, utilizando a monitoração de reação múltipla. O método demonstrou capacidade para quantificação dos 10 fármacos psicotrópicos e seus metabólitos no plasma humano, apresentando como principal vantagem a otimização de recursos laboratoriais e o ganho de tempo.

Trivedi e colaboradores (2013) desenvolveram um método rápido por CLUE, indicativo de estabilidade para determinação do palmitato de PLP (Invega® Sustenna™), utilizando sistema de fase reversa. O método apresentou-se seletivo, linear, preciso, exato, robusto e indicador de estabilidade para quantificação do fármaco em suspensão injetável de liberação prolongada.

Sawant e Barge (2013) submeteram a PLP à degradação forçada sob as condições de hidrólise, oxidação, fotólise e estresse térmico segundo o ICH Q1A diretriz R2. Foram formados três produtos de degradação e sua separação foi realizada em coluna analítica Thermo C₁₈-RP utilizando método de eluição em gradiente, e caracterizados por EM, em sistema LC-APCI-MS. As razões *m/z* dos produtos de degradação encontrados foram 255,2; 221,1; e 355,2, sendo o produto 2 considerado uma impureza de síntese. As estruturas químicas estão ilustradas na Figura 3.

Figura 3 - Estruturas químicas de produtos de degradação da paliperidona em condições de estresse



Fonte: Adaptado de Sawant e Barge, 2013, p. 46.

Nagata e colaboradores (2013) avaliaram os perfis de dissolução dos comprimidos de 3 mg de Invega®, utilizando o método de cilindro alternativo (método RC). Foram usados 4 composições diferentes de fluidos de dissolução, considerando o ambiente do comprimido no

trato gastrointestinal. A dissolução dos comprimidos também foi realizada pelo método de pá, utilizando água destilada como meio de dissolução, e os perfis obtidos foram muito semelhantes.

Chen e colaboradores (2014) avaliaram o perfil farmacocinético *in vivo* de PLP em comprimidos de liberação prolongada, desenvolvendo e validando um método simples e rápido por CLUE-MS/MS para determinação do fármaco em plasma de cães da raça beagle. PLP e diazepam (padrão interno) foram extraídos do plasma com dietiléter e separados em coluna C₁₈, com eluição isocrática em fase móvel composta por metanol:0,1% ácido fórmico, fluxo de 0,3 mL/min. O método apresentou como principais vantagens a simplicidade do preparo de amostra, picos mais nítidos, maior recuperação de extração e menor tempo de corrida, sendo aplicado com sucesso para estudos de farmacocinética do fármaco em amostras de plasma de cães.

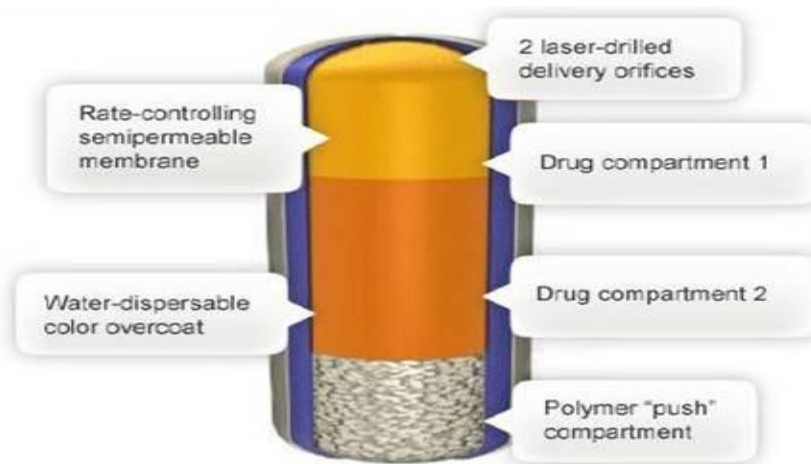
Para o sistema OROS[®], estudos prévios foram realizados usando espectrofotometria ultravioleta (UV) para a quantificação do fármaco, e os resultados demonstraram que os excipientes da matriz interferem na faixa de absorção de radiação. É necessária a derivação do espectro do UV-normal para utilização desta técnica na determinação do teor. Mendez e colaboradores (2014) desenvolveram e validaram um método derivando os espectros normais do UV em primeira derivada com detecção em 288 nm. Para extração do fármaco, foi utilizado HCl 0,1 mol/L em banho de ultrassom por 60 minutos. O método mostrou-se linear, específico, preciso, exato e robusto, e uma alternativa eficiente na quantificação de PLP, equivalente ao método por CLAE.

3.4 SISTEMA OROS[®]

Nos últimos anos, grande atenção tem sido dedicada para o desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos e melhor aceitação pelo paciente. Entre os vários sistemas disponíveis, os sistemas de liberação oral controlada inseriram-se com grande participação no mercado (VERMA; KRISHNA; GARG, 2002). O sistema pioneiro de bomba osmótica para a liberação de fármacos é o sistema OROS[®], desenvolvido pela *Alza Corporation* (Vacaville – CA, EUA). O comprimido é ingerido e a membrana semipermeável permite que a água do estômago do paciente penetre no núcleo do comprimido, dissolvendo ou suspendendo o fármaco. À medida que a pressão aumenta na camada osmótica, o fármaco é bombeado para

fora, através do orifício presente em um dos lados da membrana semipermeável. Somente a solução do fármaco é capaz de passar através desta abertura. O sistema é desenvolvido de modo que somente algumas poucas gotas de água sejam retiradas do comprimido a cada hora. A velocidade de influxo da água e o funcionamento da bomba dependem do gradiente osmótico entre o conteúdo da bicamada do núcleo e do fluido do trato gastrointestinal. A liberação é essencialmente constante enquanto o gradiente osmótico permanecer constante. A velocidade de liberação do fármaco pode ser alterada modificando-se a área de superfície, a espessura ou a composição da membrana e/ou o diâmetro do orifício para liberação do fármaco (ALLEN Jr; POPOVICH; ANSEL, 2007). Existe também o chamado sistema Push-Pull™ (Figura 4), utilizado principalmente para princípios ativos de alta solubilidade ou insolúveis em água, que além dos constituintes do sistema elementar, ainda apresenta um polímero expansível que age como agente osmótico. À medida que a água do estômago penetra pela membrana semipermeável, o polímero se expande, auxiliando na expulsão do fármaco pelos orifícios superiores (EMEA, 2007; COELHO, 2007).

Figura 4 - Comprimido OROS® tipo Push-Pull™ da paliperidona



Fonte: Adaptado de Janssen Pharmaceuticals, 2014.

As seguintes vantagens têm contribuído para a popularidade dos sistemas osmóticos de distribuição de fármacos (AHUJA; KUMAR; RATHEE, 2012; PATEL et al., 2012; PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007):

- Melhorar a adesão do paciente;

- Frequência reduzida de administração;
- Efeito terapêutico prolongado com concentração no sangue uniforme;
- Normalmente conferem um perfil de liberação de ordem zero depois de um atraso inicial;
- A liberação do fármaco é independente do pH gástrico e condição hidrodinâmica;
- Estão bem caracterizados e compreendidos;
- Os mecanismos de liberação não são dependentes dos fármacos;
- Um elevado grau de ensaios *in vitro* e *in vivo* de correlação (CIVIV) é obtido em sistemas osmóticos;
- Maiores taxas de liberação são possíveis com sistemas osmóticos em comparação com os sistemas de entrega dos fármacos por difusão controlada convencionais;
- A liberação a partir de sistemas osmóticos é minimamente afetada pela presença de alimentos no trato gastrointestinal;
- A taxa de liberação dos sistemas osmóticos é altamente previsível e pode ser programada por modulação dos parâmetros de controle da mesma.

As principais desvantagens desse sistema são:

- Requerer equipamento especial para fazer o orifício de liberação do sistema;
- Ocorrer *dose dumping*, que é a liberação rápida do fármaco por algum defeito na fabricação do produto;
- O tempo de residência do sistema no organismo, que varia de acordo com a motilidade gástrica e a ingestão de alimentos;
- Custo elevado.

CAPÍTULO I - CARACTERIZAÇÃO DA SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA (SQR) DE PALIPERIDONA

1 INTRODUÇÃO

De acordo com o FDA, SQR é uma substância altamente purificada e amplamente caracterizada. A pureza desses produtos é de fundamental importância para o controle de qualidade e a validação de métodos analíticos. Existem as SQR compendiais, que são adquiridas de fontes como a USP e que não necessitam de caracterização posterior; e as SQR não-compendiais, com elevado teor de pureza, porém necessitam ser caracterizadas cuidadosamente (SWARTZ; KRULL, 1998).

Com base nisso, objetivou-se caracterizar a SQR da PLP utilizada neste trabalho.

2 SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA (SQR)

Utilizou-se PLP com teor declarado de 99,2%, adquirido junto a *AK Scientific* (Mountain View, CA, EUA).

3 IDENTIFICAÇÃO DA SQR

Os procedimentos de caracterização foram realizados com a SQR de PLP citada no item 2.

As seguintes técnicas foram utilizadas para caracterização da SQR da PLP: faixa de fusão pelo método capilar, espectrofotometria no ultravioleta (UV), espectrofotometria no infravermelho (IV), análise térmica por calorimetria exploratória de varredura (DSC) e ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C .

3.1 Faixa de fusão pelo método capilar

As análises da faixa de fusão pelo método capilar foram realizadas em equipamento Fisaton modelo 43 (São Paulo – SP, Brasil). A amostra foi compactada em tubo capilar com diâmetro de 1 mm e 6 cm de comprimento. A faixa de fusão obtida foi de 196-198°C, com determinação em triplicata. Comparou-se essa faixa com os dados obtidos pela análise térmica por DSC.

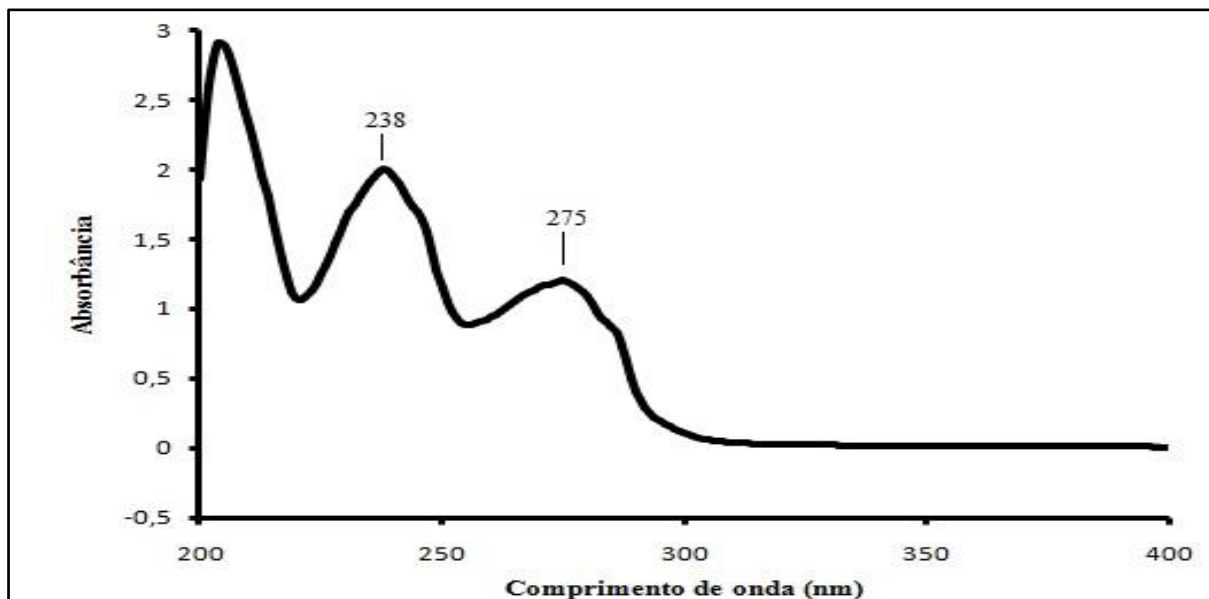
3.2 Espectrofotometria no ultravioleta (UV)

As análises foram realizadas em espectrofotômetro UV-VIS Perkin Elmer[®] Lambda 35 (Akron, OH, EUA). O espectro de absorção foi traçado na região UV, entre 200 e 400 nm.

Para a análise, pesou-se exatamente 5,0 mg da SQR de PLP em balança analítica e transferiu-se para balão volumétrico de 50 mL, obtendo-se uma solução à 100 µg/mL em HCl 0,1000 mol/L. Filtrou-se em papel filtro quantitativo. Pipetou-se, então, 6,0 mL, quantidade esta adicionada em balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com HCl 0,1 mol/L. As amostras foram submetidas à leitura utilizando cubetas de quartzo com percurso óptico de 1 cm, e solução de HCl 0,1000 mol/L como branco.

O espectro UV da PLP na concentração de 60,0 µg/mL está apresentado na Figura 5, na qual se observam os seguintes máximos: 238 nm e 275 nm. Esses máximos de absorção estão de acordo com a literatura consultada (KANCHARLA et al., 2013; MENDEZ et al., 2014).

Figura 5 – Espectro UV da SQR de paliperidona, na concentração de 60 µg/mL, dissolvida em HCl 0,1000 mol/L em banho de ultrassom por 60 min



3.3 Espectrofotometria de absorção no infravermelho (IV)

A caracterização da SQR de PLP por IV foi realizada em espectrofotômetro Shimadzu® modelo 8001 (Kyoto, Japão) com leitura na região de 4.000-600 cm^{-1} , utilizado acessório ATR (attenuated total reflectance).

O espectro de infravermelho é único para cada substância, característico da molécula como um todo. É muito pouco provável que duas substâncias que não sejam enantiômeras apresentem o mesmo espectro. Porém certos grupos de átomos dão origem a bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência, independente da estrutura da molécula. Como não se depende somente do espectro do infravermelho para identificação de compostos, a análise detalhada do espectro não é necessária (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIENLE, 2012). Na Figura 6, verificam-se as seguintes bandas características (cm^{-1}): 1638,97; 1535,24; 1119,80; 958,07.

Figura 6 – Espectro na região do IV da SQR da paliperidona



A descrição das bandas de absorção dos principais grupamentos químicos presentes na molécula de PLP encontra-se na Tabela 1. As vibrações de deformação axial de C=O de lactamas com anéis de seis ou mais átomos absorvem em 1650 cm⁻¹. As vibrações de deformação axial de álcool e fenóis resultam em uma banda forte entre 1260 e 1100 cm⁻¹. As deformações em fase fora do plano dos átomos de hidrogênio adjacentes dos anéis aromáticos são fortemente acopladas entre si. Por essa razão, as posições das absorções correspondentes são características do número de átomos de hidrogênio adjacentes no anel. Essas bandas aparecem entre 900 e 675 cm⁻¹ (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIENLE, 2012).

Tabela 1 - Frequências das principais bandas de absorção da paliperidona e respectivas atribuições

Frequência (cm⁻¹)	Atribuição
1638,97	Deformação axial C=O da lactama
1535,24	Deformação angular C=C do anel aromático
1119,80	Deformação axial C-O de álcool
958,07	Deformação angular fora do plano C-H do anel aromático 1,2,4-trissubstituído

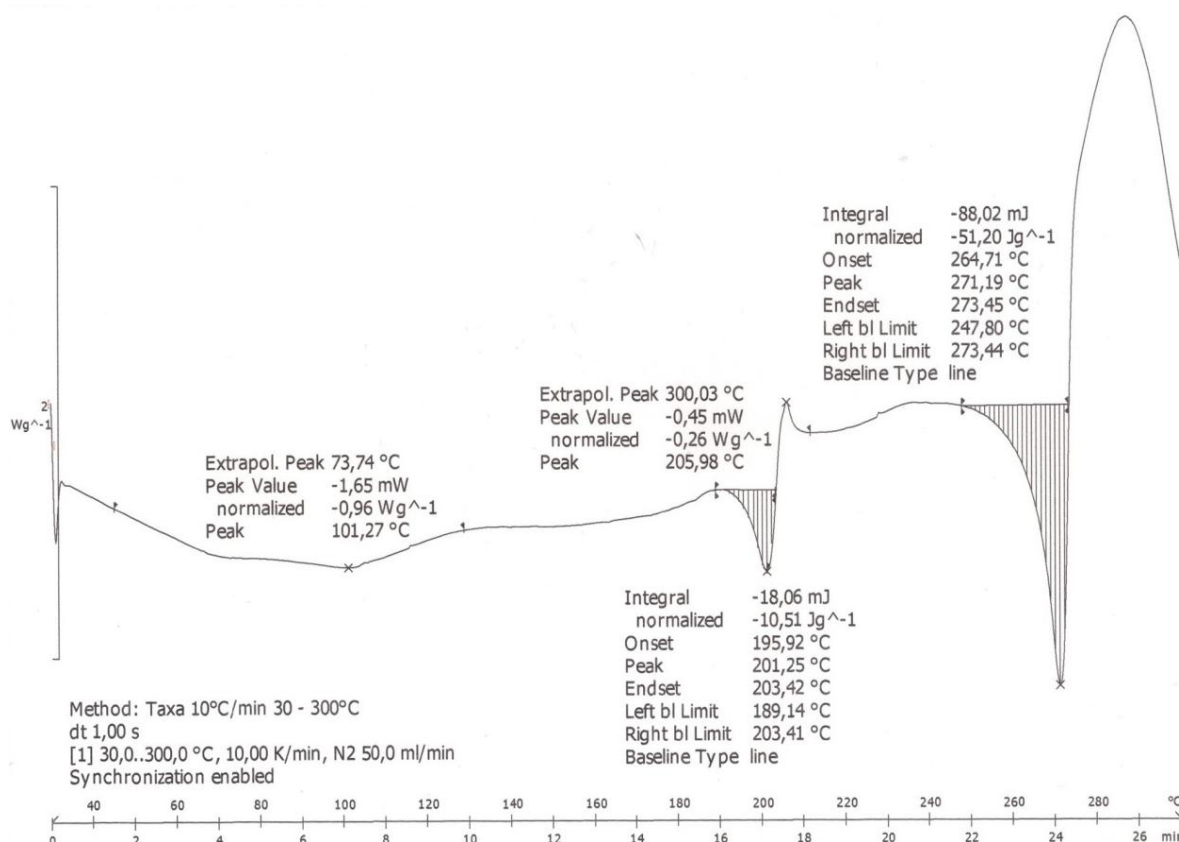
Algumas frequências obtidas na Tabela 1 podem ser comparadas as atribuições presentes no estudo de Vinay Kumar e colaboradores (2012).

3.4 Análise térmica por calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Através da DSC pode-se determinar a faixa de fusão de uma substância. A fusão corresponde à porção endotérmica da curva DSC que se afasta da linha de base, retornando posteriormente à mesma. O início extrapolado da curva determina a temperatura de fusão (RODRIGUES et al., 2005). A forma, posição e número de picos são úteis para análise qualitativa, enquanto a área sob os mesmos, para análise quantitativa, tornando-se importante conhecer como os fatores externos podem afetar estas características para adequada análise e reprodutibilidade (BERNAL et al., 2002).

Para as análises, utilizou-se um calorímetro exploratório diferencial por fluxo de calor Shimadzu[®] DSC-60 (Kyoto, Japão), com controlador de fluxo para gás de purga (N₂). Transferiu-se 1,0 mg de PLP para o porta-amostra de alumínio com capacidade de 4 µL, que foi selado e colocado no equipamento. A taxa de aquecimento utilizada foi de 10°C/min de 30 a 300°C. Na Figura 7 é possível observar o pico endotérmico de fusão em 195,92°C estando próximo da faixa encontrada na literatura (172-190°C) (JANSSEN-ORTHO, 2007). Também ocorreu a presença de outro pico endotérmico e um exotérmico, podendo indicar uma decomposição da amostra devido às altas temperaturas (GORDON, 1963, p. A87 apud BERNAL et al., 2002, p. 381). O resultado da DSC está de acordo com a faixa de fusão obtida pelo método capilar (196-198°C).

Figura 7 – Curva de aquecimento obtida por DSC para a paliperidona



3.5 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ¹H (RMN ¹H)

O espectro de RMN ¹H da SQR de PLP foi obtido em espectrofotômetro Varian modelo INOVA 300 MHz (Palo Alto, CA, EUA) utilizando metanol deuterado (MeOD) como solvente. O espectro de RMN ¹H e a estrutura química da PLP estão apresentados na Figura 8. As análises dos deslocamentos químicos dos hidrogênios estão de acordo com Silverstein e colaboradores (2012) e as atribuições indicadas na Tabela 2.

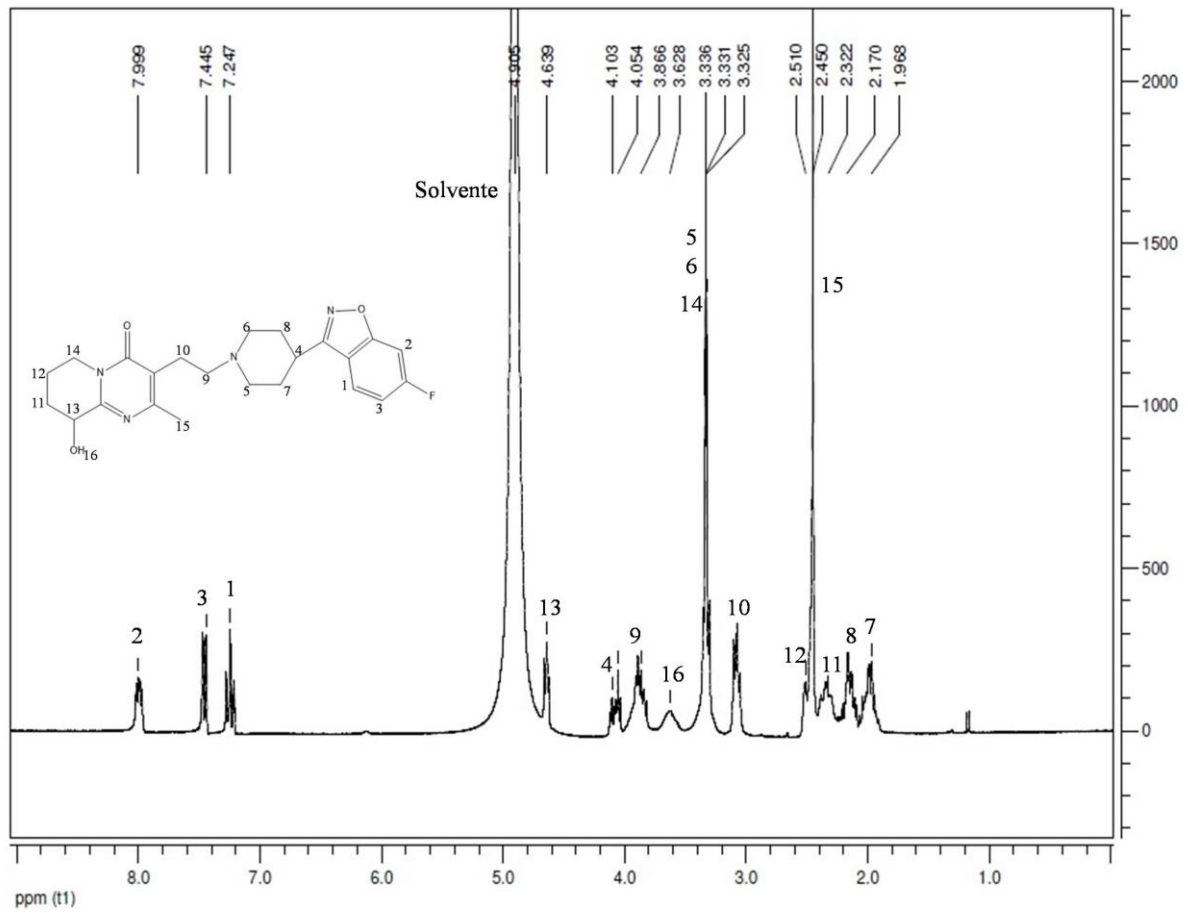
Figura 8 – Espectro de RMN ^1H da SQR da paliperidona em metanol deuterado

Tabela 2 - Atribuições do espectro de RMN ^1H da SQR da paliperidona em metanol deuterado

Posição	Deslocamento químico (ppm)	Multiplicidade	Número de hidrogênios	Interpretação
7	1,968	Multiplete	2	CH-CH ₂ -CH ₂
8	2,17	Multiplete	2	CH-CH ₂ -CH ₂
11	2,322	Multiplete	2	CH-CH ₂ -CH ₂
15	2,45	Singlete	3	CH ₃ C
12	2,51	Multiplete	2	CH ₂ -CH ₂ -CH
10	3,04	Multiplete	2	R-CH ₂ -Aromático
5	3,336	Triplete	2	R-CH ₂ -N
6	3,336	Triplete	2	R-CH ₂ -N
14	3,336	Triplete	2	R-CH ₂ -N
16	3,628	Broad (largo)	1	OH
9	3,866	Multiplete	2	R-CH ₂ -N
4	4,103	Multiplete	1	R-CH-R ₂
13	4,639	Triplete	1	C-CH-OH
Solvente	4,905			Metanol deuterado
1	7,247	Multiplete	1	H de Aromático
3	7,445	Multiplete	1	H de Aromático
2	7,999	Multiplete	1	H de Aromático

3.6 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de ^{13}C (RMN ^{13}C)

O espectro de RMN ^{13}C da SQR de PLP foi obtido em espectrofotômetro Varian modelo INOVA 300 MHz (Palo Alto, CA, EUA) utilizando MeOD como solvente. O espectro de RMN ^{13}C e a estrutura química da PLP estão apresentados na Figura 9. As atribuições devidas estão indicadas na Tabela 3, estando de acordo com Silverstein e colaboradores (2012).

Figura 9 - Espectro de RMN ^{13}C da SQR da paliperidona em metanol deuterado

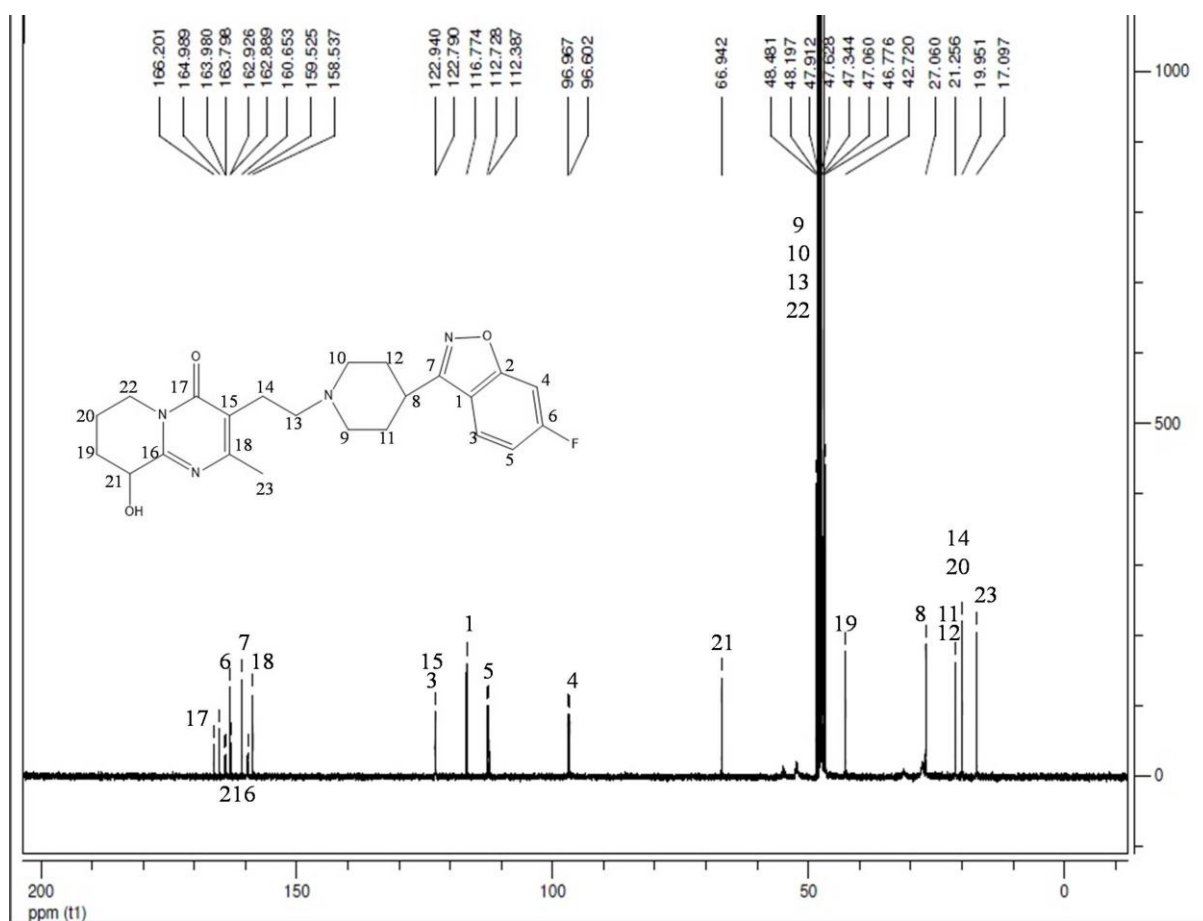


Tabela 3 - Atribuições do espectro de RMN ^{13}C da SQR da paliperidona em metanol deuterado

Carbono	Deslocamento químico (ppm)	Interpretação
23	17,097	R-CH ₃
20	19,951	R-CH ₂ -R
14	19,951	R-CH ₂ -R
11	21,256	R-CH ₂ -R
12	21,256	R-CH ₂ -R
8	27,060	R ₃ CH
19	42,720	R-CH ₂ -R
22	46,776	R-CH ₂ -N
9	47,060	-R-CH ₂ -N
10	47,060	-R-CH ₂ -N
13	47,628	-R-CH ₂ -N
21	66,942	C-O
4	96,602	C aromático
5	112,387	C aromático
1	116,77	C aromático
15	122,79	C aromático
3	122,90	C aromático
18	158,537	R ₂ -C-N=
16	159,525	N-C=N
7	160,653	C=N
2	162,889	C-O-N
6	163,798	C de aromático ligado ao F
17	166,201	C aromático ligado =O

Considerando que os resultados obtidos nas análises contribuíram para garantir a identidade do fármaco, utilizou-se a matéria-prima em questão como SQR.

CAPÍTULO II – CINÉTICA DE DECOMPOSIÇÃO DA PALIPERIDONA E ESTUDO DOS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO MAJORITÁRIOS

1 INTRODUÇÃO

A realização de testes de estabilidade tem como objetivo prever, determinar ou acompanhar o prazo de validade de produtos farmacêuticos. Esses testes são classificados como acelerado, de acompanhamento e de longa duração (BRASIL, 2005). O estudo de estabilidade acelerado é projetado para acelerar a degradação química e/ou mudanças físicas de um produto farmacêutico em condições forçadas de armazenamento. O estudo de acompanhamento é realizado para verificar se o produto farmacêutico mantém suas características físicas, químicas, biológicas e microbiológicas conforme os resultados obtidos nos estudos de estabilidade de longa duração, que nada mais são do que estudos projetados que verificam as mesmas características de um produto farmacêutico citadas acima durante, e opcionalmente, depois do prazo de validade esperado (BRASIL, 2012). Entende-se por prazo de validade o tempo durante o qual o produto poderá ser usado, e para medicamentos, é caracterizado pelo tempo durante o qual o fármaco perde no máximo 10% de sua integridade (GIL, 2010). O fabricante do produto determina esse prazo limite tendo como base os resultados dos testes de estabilidade, sendo do estudo acelerado ou de longa duração. Quanto o prazo for estimado pelos resultados obtidos do teste acelerado, deve ser confirmado pelos estudos do estudo de longa duração (BRASIL, 2005).

Segundo a Resolução RE nº 1 de 2005 (BRASIL, 2005), a estabilidade de produtos farmacêuticos depende de diversos fatores ambientais, como temperatura, umidade, luz e de outros, como propriedades físicas e químicas do fármaco e seus excipientes, forma farmacêutica e sua composição, processo de fabricação, tipo e propriedade dos materiais de embalagem.

Existe também o teste de estresse, que é realizado em condições extremas, mostrando-se como uma importante ferramenta dentro do planejamento para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica. A investigação da estabilidade intrínseca acaba fornecendo abordagens de formulação e indica tipos de adjuvantes, melhorando a integridade do fármaco e do produto (SILVA et al., 2009). Neste caso, são usadas condições mais severas do que as usadas no estudo de estabilidade acelerado, como estratégia para a fase de desenvolvimento da forma farmacêutica (KLICK et al., 2005). Esse teste ajuda a identificar os prováveis produtos de degradação do fármaco e o procedimento analítico a ser adotado no estudo de estabilidade, sendo que a natureza dos testes depende do tipo de molécula que está sendo estudada (ICH,

2003). Devem ser observados os efeitos da temperatura, umidade, oxidação, luz e susceptibilidade à hidrólise em amplas faixas de valores de pH (BRASIL, 2012).

O estudo da cinética de degradação apresenta vários objetivos, dentre os principais a obtenção experimental dos dados cinéticos, proposição do mecanismo de reação, planejamento dos experimentos necessários para confirmar as hipóteses propostas e o estabelecimento das condições para acelerar ou diminuir a velocidade da reação conforme a necessidade (NUDELMAN, 1975). A cinética de degradação de uma reação diz respeito à velocidade específica de reação, sendo expressa por “k”, que indica a intensidade de degradação ou alteração que o medicamento ou um de seus componentes sofreu em um determinado tempo, e confere aos estudos de estabilidade suporte físico-químico e matemático, correlacionando prazo de validade com a velocidade de reações, complementando-os (GIL, 2010). Reações de ordem zero, primeira ordem e segunda ordem são as mais importantes nesses estudos, sendo as de segunda ordem menos frequentes na literatura, pois muitas vezes o reagente é desconhecido em situações de estabilidade (CARSTENSEN; RHODES, 2007). As reações de ordem zero são aquelas em que a velocidade da reação independe da concentração dos reagentes. Já nas reações de primeira ordem, essa velocidade é proporcional à concentração de um dos reagentes e nas de segunda ordem, proporcional à concentração de dois reagentes ou à segunda potência de um deles. A partir da determinação da velocidade e ordem de reação, é possível obter outros dados, como o $t_{90\%}$ (tempo que a concentração do fármaco decai 10%) e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) (tempo que a concentração do fármaco cai pela metade do valor inicial) (NUDELMAN, 1975; GIL, 2010).

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Equipamentos

- a) Balança analítica Shimadzu[®] AY220 (Kyoto, Japão);
- b) Câmara de fotoestabilidade;

- c) Cromatógrafo a líquido de alta eficiência Shimadzu[®] (Kyoto, Japão), com bomba LC-20AT, autoinjeter SIL-20A, forno de coluna CTO-20A, detector UV-DAD SPD-M20A, comunicador CBM-20A e desgaseificador DGU-20A5;
- d) Equipamento LC-MS Acquity[®] UPLC (Waters Co., MA, EUA), equipado com sistema de distribuição binária de solvente e autoinjeter, com detectores UV-DAD e espectrômetro de massas Q-TOF Micro-Micromass (Waters Co., MA, EUA);
- e) Estufa Nova Ética 400 5ND (Vargem Grande Paulista – SP, Brasil);
- f) Lavadora ultrassônica Unique[®] USC 2850A com frequência 25 kHz (Indaiatuba – SP, Brasil);
- g) Potenciômetro Hanna, modelo 2220 (Colônia Granjas México, México);
- h) Sistema purificador de água Millipore Direct-Q[®] 3 UV (Darmstadt, Alemanha).

2.2 Solventes

- a) Acetonitrila grau HPLC – J.T.Baker (Cidade do México, México);
- b) Ácido clorídrico (HCl) 37% PA –Synth (Diadema – SP, Brasil);
- c) Ácido fórmico (CH₂O₂) 85% - Synth (Diadema – SP, Brasil);
- d) Fosfato de potássio monobásico (KH₂PO₄) PA - Química Moderna (São Paulo – SP, Brasil);
- e) Hidróxido de sódio (NaOH) PA – Dinâmica (Diadema - SP, Brasil);
- f) Peróxido de hidrogênio (H₂O₂) PA – Fmaia (Cotia – SP, Brasil);
- g) Trietilamina (C₆H₁₅N) – Merck (Darmstadt, Alemanha).

2.3 Amostras comerciais

Comprimidos de liberação osmótica oral controlada de PLP na concentração de 3 mg, de nome comercial Invega[®], fabricado pela *Janssen-Cilag Farmacêutica (São Paulo – SP, Brasil)*.

2.4 SQR

A SQR utilizada foi descrita no item 2 do Capítulo I. Para o preparo da mesma, foram pesados exatamente 5,0 mg desta em balança analítica e transferidos para um balão volumétrico de 50 mL (100 µg/mL), obtendo-se a solução em HCl 0,0100 mol/L. Pipetou-se o volume necessário para obtenção da concentração de análise (30 µg/mL), utilizando a fase móvel como diluente.

2.5 Obtenção do fármaco a partir da matriz sintética (comprimidos OROS[®])

Para obtenção do fármaco a partir da matriz sintética (comprimidos OROS[®]), foi utilizado banho de ultrassom em lavadora ultrassônica Unique[®] por 60 minutos, previamente descrito na literatura (BARBOSA et al., 2012; MENDEZ, et al., 2014).

Para avaliar a eficiência da obtenção do fármaco durante o preparo da amostra, comparou-se o teor (%) obtido na amostra com tratamento direto dos comprimidos osmóticos, sem rompimento, com o teor (%) obtido após o corte e rompimento da matriz osmótica. Para o cálculo foram utilizados valores de peso médio dos comprimidos e da concentração da SQR, preparada conforme o item 2.4. O rompimento da membrana semipermeável do comprimido foi realizado com aparato de corte (tesoura) e o conteúdo foi adicionado em balão volumétrico, seguindo o mesmo procedimento de obtenção de amostra mencionado anteriormente por Barbosa e colaboradores (2012) e Mendez e colaboradores (2014). Para cada condição, conduziu-se ensaios em triplicata de amostra. As injeções foram efetuadas em triplicata por solução de análise.

2.6 Condições cromatográficas

Para o estudo de estabilidade, seguiu-se o protocolo para o método por CLAE já desenvolvido e validado por Barbosa e colaboradores (2012), utilizando as seguintes condições:

- Sistema: fase reversa;
- Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina e acetonitrila na proporção 70:30 (pH 3,8, ajustado com ácido ortofosfórico 85%);
- Coluna: Shimadzu[®] Shim-Pack ODS-C₁₈;
- Detecção: 280 nm
- Volume de injeção: 20 µL;
- Vazão: 1 mL/min.

2.7 Condições de degradação forçada

Os procedimentos seguidos para cada condição de degradação forçada estão descritos abaixo. Para preparo da matriz de trabalho, dois comprimidos OROS[®] de PLP 3,0 mg foram adicionados em balão volumétrico de 50 mL contendo HCl 0,0100 mol/L. Submeteu-se então ao banho de ultrassom pelo tempo de 60 minutos. Após, filtrou-se o conteúdo através de papel filtro quantitativo. Previamente à injeção, todas as amostras foram filtradas em mini-filtros de nylon 0,45 µm (Millipore, Bradford, EUA). Os experimentos foram conduzidos estabelecendo reprodutibilidade a partir do trabalho com duplicata de amostra em cada condição de degradação.

2.7.1 Degradação oxidativa

Deste filtrado, a 120 µg/mL, o volume de 40 mL foi transferido para balão volumétrico de 100 mL, completando-se o volume H₂O₂ a 30% (amostra e H₂O₂ diluídos à 48,0 µg/mL e 18%, respectivamente). Deixou-se em repouso à temperatura ambiente por tempos estabelecidos (1h, 2h, 3h, 6h, 12h, 24h, 72h, 144h). Para análise, foram pipetados volumetricamente 5,0 mL desta última solução para balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com fase móvel e obtendo-se uma concentração de análise de 24,0 µg/mL. Para o tempo zero, foram pipetados volumetricamente 2,0 mL do volume

restante do filtrado e adicionados a balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com fase móvel.

2.7.2 Fotodegradação

Deste filtrado, a 120 µg/mL, o volume de 1,0 mL foi pipetado e adicionado em cubetas de quartzo com percurso óptico de 1 cm. As mesmas foram levadas a câmara de fotodegradação com lâmpada UVA 352 nm (luz negra) e deixadas em repouso por tempos estabelecidos (0,5h, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h, 24h e 36h). Para análise, cada cubeta foi lavada com 4,0 mL de fase móvel obtendo-se uma concentração de análise de 24,0 µg/mL. Para o tempo zero, foram pipetados volumetricamente 2,0 mL do volume restante do filtrado e adicionados a balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com fase móvel.

2.7.3 Degradação térmica

Deste filtrado, a 120 µg/mL, volume suficiente foi adicionado em frascos de eppendorf e levados à estufa a 80°C por tempos estabelecidos (6h, 12h, 24h, 36h, 48h e 96h). Para análise, foram pipetados volumetricamente 2,0 mL do eppendorf para balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com fase móvel e obtendo-se uma concentração de análise de 24,0 µg/mL. Para o tempo zero, foram pipetados volumetricamente 2,0 mL do volume restante do filtrado e adicionados a balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com fase móvel.

2.7.4 Hidrólise ácida

Deste filtrado, a 120 µg/mL, 40,0 mL foram transferidos para um frasco utilizando uma bureta e adicionou-se 40,0 mL de HCl 2 mol/L (amostra e HCl diluídos para 60 µg/mL e 1 mol/L, respectivamente). Deixou-se em repouso à temperatura ambiente por 8h. Para

análise, foram pipetados volumetricamente 4,0 mL desta última solução para balão volumétrico de 10 mL, adicionando volumetricamente 4,0 mL de NaOH 1 mol/L para neutralização da solução e completou-se o volume com fase móvel obtendo-se uma concentração de análise de 24,0 µg/mL. Para o tempo zero, foram pipetados volumetricamente 2,0 mL do volume restante do filtrado e adicionados a balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com fase móvel.

2.7.5 Hidrólise alcalina

Deste filtrado, a 120 µg/mL, 40,0 mL foram transferidos para um frasco utilizando uma bureta e adicionou-se 40,0 mL de NaOH 2 mol/L (amostra e NaOH diluídos para 60 µg/mL e 1 mol/L, respectivamente). Deixou-se em repouso à temperatura ambiente por 72h. Para análise, foram pipetados volumetricamente 4,0 mL desta última solução para balão volumétrico de 10 mL, adicionando volumetricamente 4,0 mL de HCl 1 mol/L para neutralização da solução e completou-se o volume com fase móvel obtendo-se uma concentração de análise de 24,0 µg/mL. Para o tempo zero, foram pipetados volumetricamente 2,0 mL do volume restante do filtrado e adicionados a balão volumétrico de 10 mL, completando-se o volume com fase móvel.

2.8 Estabilidade das soluções de análise

Para a avaliação da estabilidade das soluções de análise, um comprimido de 3 mg de PLP foi adicionado em balão volumétrico de 25 mL (120 µg/mL) contendo HCl 0,0100 mol/L. Filtrou-se em papel filtro quantitativo. Do filtrado, foram pipetados volumetricamente 10 mL para um balão volumétrico de 50 mL, e o volume completado com fase móvel (concentração de análise 24 µg/mL). Filtrou-se com filtros de nylon de 0,45 µm (Millipore, Bradford, EUA), para frascos eppendorfs, os quais foram mantidos em repouso em temperatura ambiente e também em geladeira por tempos estabelecidos (12h, 24h e 36h). Após, procedeu-se à análise por CLAE.

2.9 Cinética de degradação e determinação da ordem de reação

A ordem de reação foi determinada pelo método gráfico, relacionando-se: concentração residual de PLP (%) em função do tempo (ordem zero); log da concentração residual de PLP (%) em função do tempo (primeira ordem); inverso da concentração residual da PLP (%) em função do tempo (segunda ordem) (NUDELMAN, 1975). Para o coeficiente de correlação (r) obtido a partir das retas construídas nos respectivos gráficos, aquele que apresentar valor mais próximo da unidade é indicativo da ordem de reação. As fórmulas para o cálculo da constante de reação (k), $t_{90\%}$ e $t^{1/2}$ para cada ordem de reação estão descritas abaixo.

- Reações de Ordem Zero:

$$C = C_0 - kt \quad (1)$$

$$t_{90\%} = (0,1 \times C_0) / k \quad (2)$$

$$t^{1/2} = C_0 / 2k \quad (3)$$

- Reações de Primeira Ordem:

$$\ln C = \ln C_0 - kt \quad (4)$$

$$t_{90\%} = 0,106 / k \quad (5)$$

$$t^{1/2} = (\ln 2) / k \quad (6)$$

- Reações de Segunda Ordem:

$$1/C = 1 / C_0 + kt \quad (7)$$

$$t_{90\%} = 1 / (9k \times C_0) \quad (8)$$

$$t^{1/2} = 1 / (k \times C_0) \quad (9)$$

Onde: C_0 = concentração dos reagentes no tempo zero; C = concentração após reação no tempo t ; e k = constante de velocidade da reação.

2.10 Identificação dos produtos de degradação

A identificação dos produtos de degradação da PLP em matriz de trabalho obtida dos comprimidos osmóticos ocorreu através das análises das amostras degradadas em equipamento LC-MS Acquity[®] UPLC (Waters Co., MA, EUA), equipado com sistema de distribuição binária de solvente e autoinjeter, com detectores UV-DAD e espectrômetro de massas Q-TOF Micro-Micromass (Waters Co., MA, EUA).

O ensaio foi conduzido seguindo a metodologia descrita por Barbosa e colaboradores (2012) adaptada para CLUE, usando sistema de fase reversa, coluna analítica C₁₈ Shim-Pack XR-ODS (50 x 2 mm, 2,1 µm), fase móvel composta por uma mistura de ácido fórmico 0,1%:acetonitrila (70:30, v/v) com pH ajustado para 3,8, de modo a evitar o uso de tampão fosfato de potássio e trietilamina, os quais apresentam volatilidade limitada e são incompatíveis com a detecção por espectrometria de massas, podendo interferir também na geração de íons (FORNGREN, 2000). A eluição foi isocrática, com fluxo de 0,2 mL/min e volume de injeção de 5,0 µL. A análise por espectrometria de massas foi conduzida no modo ESI⁺ e operado de acordo com as condições definidas: colisão de energia 4,0 eV; temperatura da fonte de electrospray e dessolvatação de gás de 100°C e 120°C, respectivamente; tensão capilar 3000 V; cone extrator 3,0 V; N₂ foi usado como nebulizador. As condições forçadas de degradação seguiram os procedimentos descritos anteriormente e os espectros de massas foram obtidos em amostras selecionadas para as seguintes condições e tempo de decomposição: degradação oxidativa em tempo de 72h; degradação fotolítica em tempo de 24h e degradação térmica em tempo de 96h.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

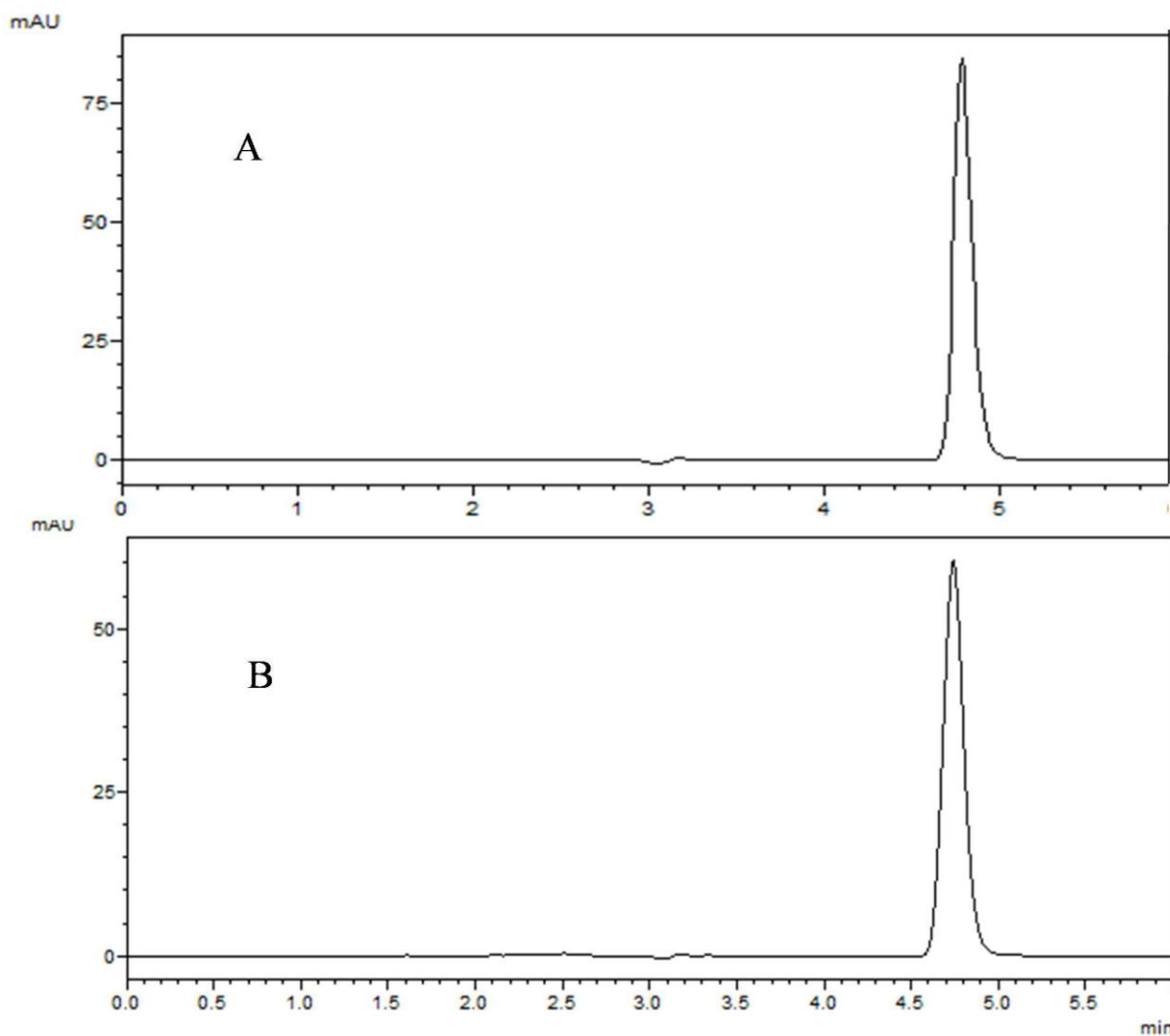
A comparação entre os procedimentos de preparo de amostra para obtenção do fármaco a partir da matriz osmótica foi estabelecida com base em determinação do teor da amostra em solução de análise. Os dados quantitativos estão apresentados na Tabela 4. É possível observar um valor de CV% de 5,91% para as amostras preparadas a partir do rompimento do sistema osmótico, enquanto a variabilidade para as amostras processadas diretamente em banho de ultrassom foi menor (CV% = 0,60). Nesta ótica, estabelece-se como um procedimento seguro o preparo da amostra sem corte do sistema osmótico. A ação de ruptura da membrana semipermeável é trabalhosa e sujeita à perda de fármaco.

Tabela 4 - Teor (%) de paliperidona nas amostras processadas por diferentes metodologias de preparo de amostra (triplicata por procedimento)

	Sistema osmótico em ultrassom	Sistema osmótico rompido
Teor (%) 1	106,98	92,44
Teor (%) 2	107,12	100,97
Teor (%) 3	105,94	103,65
Média	106,68	99,02
CV (%)	0,60	5,91

A Figura 10 ilustra os cromatogramas obtidos nas análises da SQR, em concentração de 30 µg/mL (A), e da amostra de trabalho obtida a partir do preparo do sistema OROS[®] com HCl 0,0100 mol/L, em concentração final de 24 µg/mL (B). O tempo de retenção obtido nas análises foi de 4,8 min, semelhante ao do estudo de Barbosa e colaboradores (2012).

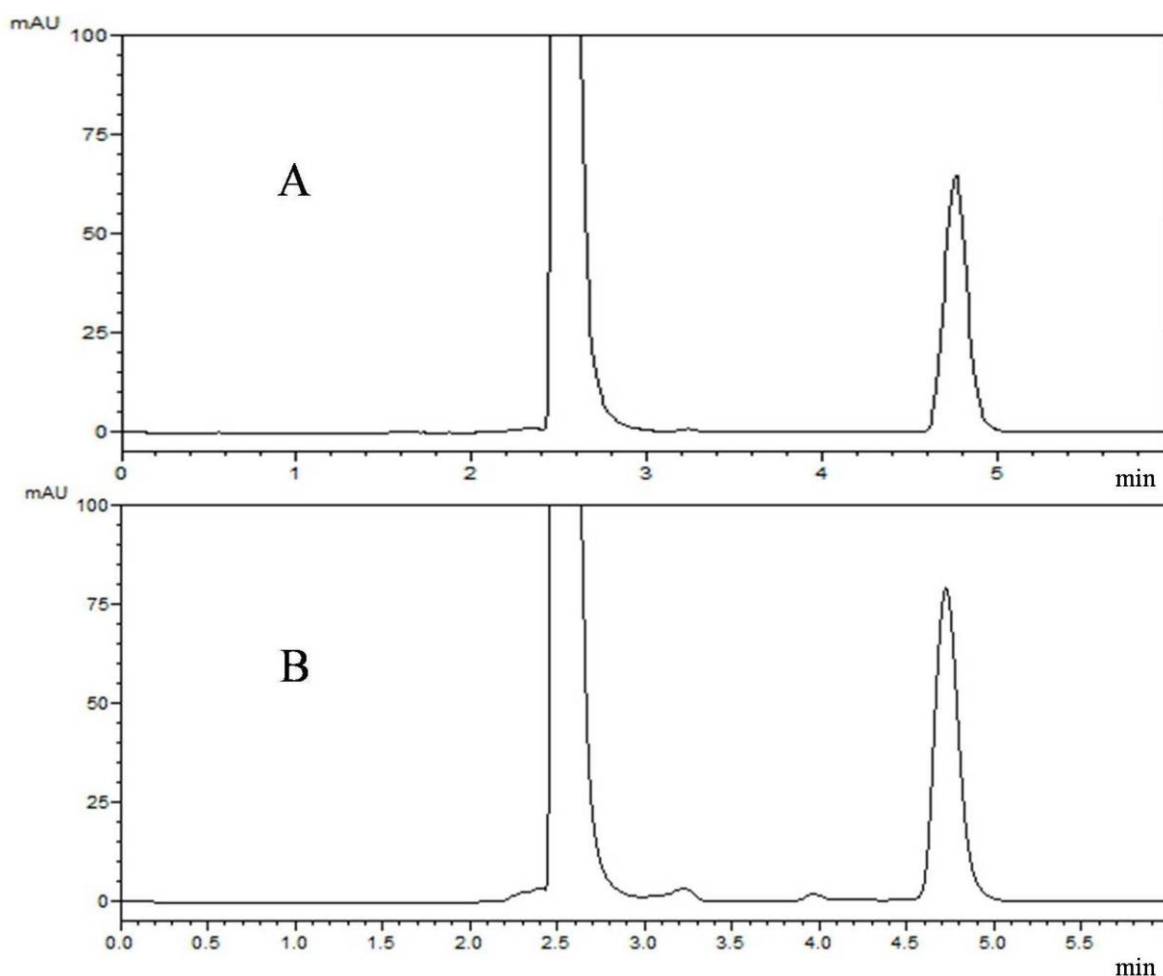
Figura 10 - Cromatograma obtido por CLAE na análise de paliperidona SQR em HCl 0,0100 mol/L, determinada na concentração de 30 µg/mL (A) e obtida de comprimidos OROS[®], determinada na concentração de 24 µg/mL (B). Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu[®] Shim-Pack C₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm



A degradação oxidativa é uma das principais causas de instabilidade de fármacos, pois o oxigênio participa da maioria das reações de oxidação e é abundante no ambiente, onde os produtos são processados e armazenados em longo prazo. A estrutura química da substância e as espécies reativas de oxigênio ou outros oxidantes interferem nos mecanismos de oxidação (LEITE, 2005). A Figura 11 ilustra o cromatograma obtido na análise da amostra degradada da PLP, obtida de preparo prévio em sistema OROS[®] na presença de H₂O₂ a 18% por tempo de 1h (A) e 72h (B). Na análise por 1h, foi possível observar, além do pico correspondente ao fármaco (4,8 min), o pico característico do estabilizante do H₂O₂ com tempo de retenção de

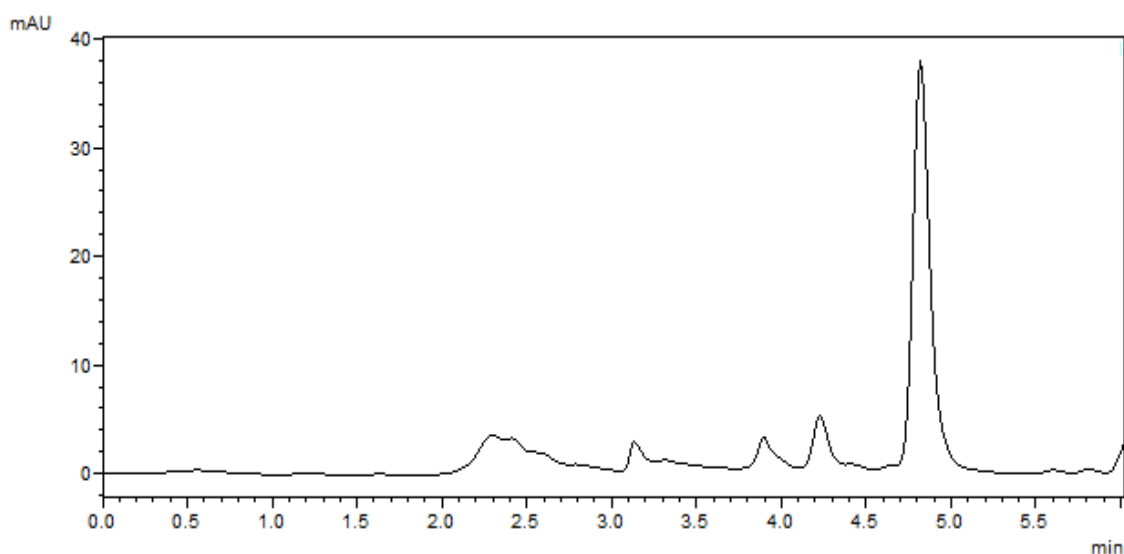
2,7 minutos. Porém, nesta condição, não foi observada diminuição do teor do fármaco. Após 72h em contato com H_2O_2 a 18%, observa-se a presença de picos entre o característico do estabilizante do H_2O_2 (2,7 min) e o da PLP (4,8 min), junto com a diminuição da área deste último, com concentração residual de 83,49%. A instabilidade de fármacos frente a condições oxidativas envolve precauções durante a manufatura e estocagem. Nesse caso, o oxigênio presente em recipientes farmacêuticos deve ser substituído por nitrogênio ou dióxido de carbono (SILVA et al., 2009).

Figura 11 - Cromatograma obtido por CLAE da análise da amostra de paliperidona extraída do comprimido OROS[®] em HCl 0,0100 mol/L e colocada em H_2O_2 18% por 1h (A) e 72h (B). Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu[®] Shim-Pack C₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm



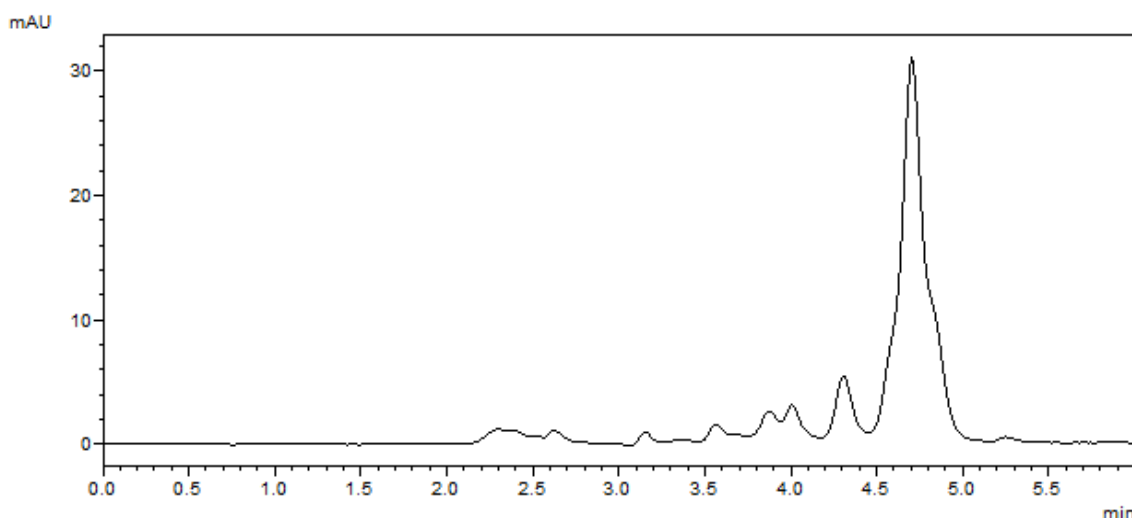
Sendo atualmente uma ferramenta importante na indicação de estabilidade de fármacos e formas farmacêuticas dentro de indústrias, a fotólise resulta da absorção de radiação pelo princípio ativo (SILVA et al., 2009). Os compostos com grupamentos cromóforos, como nitro, nitroso, cetonas, sulfonas, duplas ou triplas ligações conjugadas, são mais sensíveis as radiações (NULDEMAN, 1975; LACHMAN et al., 2001). Diferentes tipos de reações podem ocorrer pela ação da luz, como reduções, hidrólises, oxidações, isomerizações, alterações de anel, polimerizações e remoção de substituintes (TONNESEN, 2001). Segundo o ICH (1996), a temperatura no interior da câmara deve ser controlada ou um controle no escuro deve ser adicionado. A análise de amostras degradadas por luz UVA (352 nm) está ilustrada na Figura 12. Observa-se a instabilidade do fármaco na presença desse agente externo, com redução de teor do fármaco já nos primeiros tempos de armazenamento. Após 24h de exposição, a concentração residual de PLP foi de 24,64%. Também são observados produtos de degradação em tempos de retenção reduzidos. Cabe ressaltar que a temperatura elevada no interior da câmara de fotoestabilidade não apresentou efeito no teor das amostras controle, dispostas protegidas em papel alumínio. Estas amostras mantiveram-se estáveis durante as 36h de armazenamento (teor = 96,86%), comprovando que a redução da concentração de PLP decorreu apenas da exposição à radiação UVA.

Figura 12 - Cromatograma obtido por CLAE da análise da amostra de paliperidona extraída do comprimido OROS[®] em HCl 0,0100 mol/L, exposta à luz UVA (352 nm) pelo tempo de 24h. Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu[®] Shim-Pack C₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm



Entre os fatores ambientais envolvidos na degradação de produtos farmacêuticos, a temperatura é o mais importante, pois na maioria das situações, a velocidade de degradação química aumenta junto com a temperatura, não havendo um acondicionamento que os proteja dos efeitos do calor (KOMMANABOYINA; RHODES, 1999). A correta seleção da forma de armazenamento pode reduzir a influência da temperatura na degradação de fármacos instáveis a altas temperaturas (LEITE, 2005). A Figura 13 ilustra o cromatograma da análise da amostra de PLP exposta à temperatura de 80°C por tempo de 48h. Observa-se uma diminuição na área do pico do fármaco, chegando à concentração residual de 59,91%. Também ocorreu formação de produtos de degradação em tempos de retenção reduzidos.

Figura 13 - Cromatograma obtido por CLAE da análise da amostra de paliperidona extraída do comprimido OROS[®] em HCl 0,0100 mol/L, exposta a degradação térmica à 80°C pelo tempo de 48h. Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu[®] Shim-Pack C₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm



Muitos fármacos apresentam em suas estruturas grupamentos funcionais como ésteres, amidas, amidas substituídas, lactonas e lactamas, que são suscetíveis a hidrólise (LEITE, 2005). Logo, necessitam de intervenções durante a formulação e armazenamento para não comprometer a eficácia e estabilidade da forma farmacêutica. Também deve ser levado em conta o pH do meio, pois íons H⁺ e OH⁻ podem acelerar ou retardar a degradação (ALLEN Jr; POPOVICH; ANSEL, 2007). A partir do cromatograma referente à análise da amostra submetida à degradação ácida (Figura 14), bem como dos valores de teor residual do fármaco

ao longo do tempo de estocagem, observa-se o comportamento de estabilidade da PLP quando preparada no meio ácido proposto, com concentração residual de 104,64% pelo tempo de 8h. Já em meio alcalino, observou-se a decomposição do fármaco, com perfil de instabilidade, apresentando concentração residual de 72,88% pelo tempo de 72h, e formação de picos de produtos de degradação em tempos de retenção inferiores à retenção do fármaco (Figura 15).

Figura 14 - Cromatograma obtido por CLAE da análise da amostra de paliperidona extraída do comprimido OROS[®] em HCl 0,0100 mol/L, exposta a degradação ácida com HCl 1 mol/L pelo tempo de 8h. Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu[®] Shim-Pack C₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm

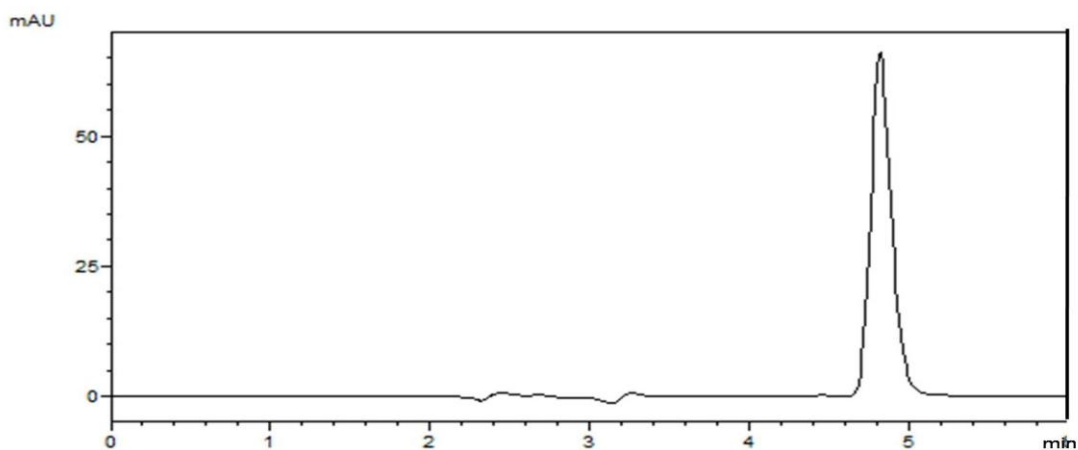
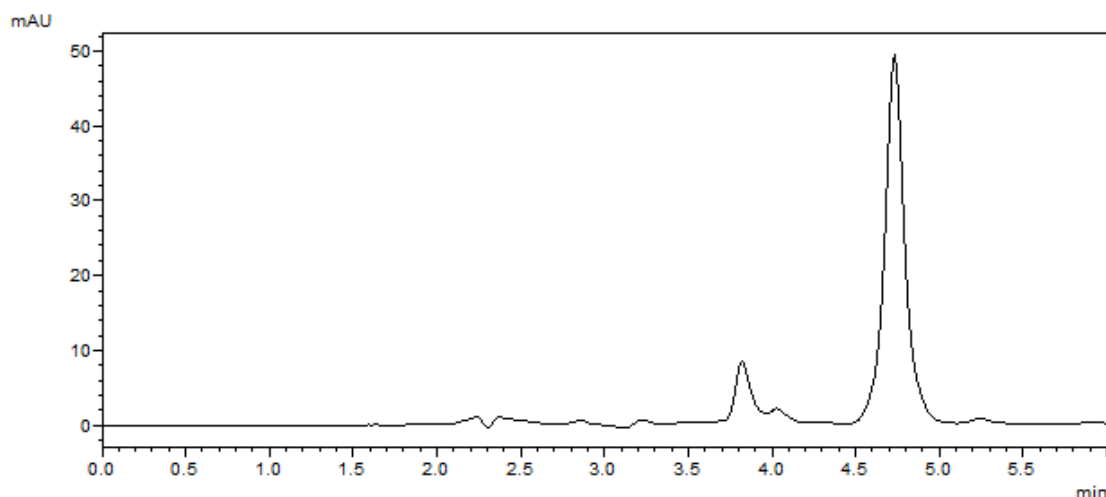


Figura 15 - Cromatograma obtido por CLAE da análise da amostra de paliperidona extraída do comprimido OROS[®] em HCl 0,0100 mol/L, exposta a degradação alcalina com NaOH 1 mol/L pelo tempo de 72h. Condições cromatográficas: Coluna Shimadzu[®] Shim-Pack C₁₈ (15 cm x 4,6 mm); Fase móvel: tampão fosfato de potássio monobásico 0,05 mol/L com 0,3% de trietilamina pH 3,8:acetonitrila (70:30, v/v); fluxo de 1 mL/min; detecção: 280 nm

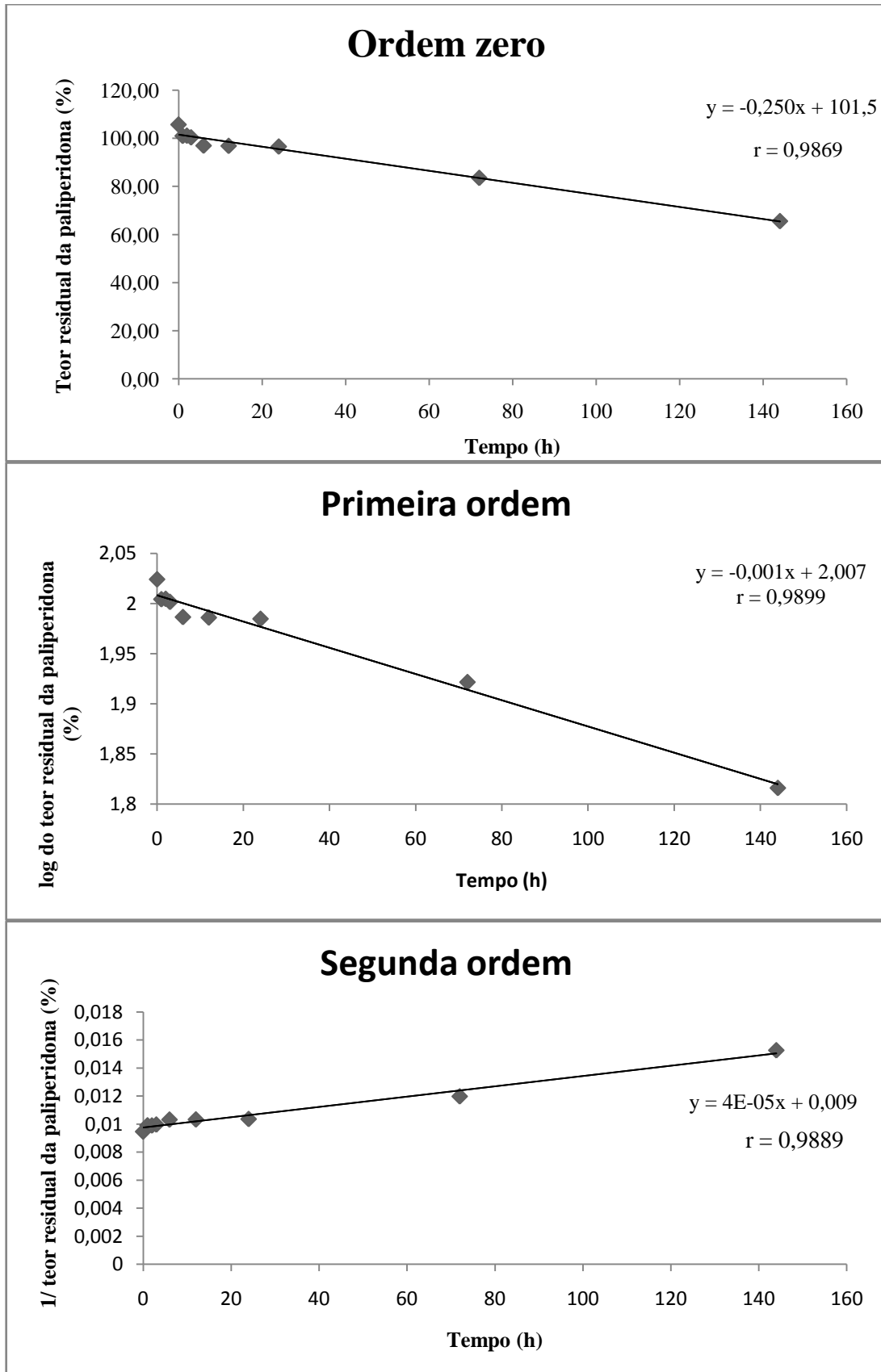


A Tabela 5 descreve os valores de teor residual (%), logC e 1/C calculados a partir da análise de PLP em meio ácido exposta a H₂O₂ a 18%. Estes dados foram utilizados para a obtenção dos gráficos de decaimento (Figura 16) e definição das ordens de reação, a partir dos respectivos coeficientes de correlação.

Tabela 5 - Valores de teor residual (%), logC e 1/C obtidos a partir da análise de amostras de paliperidona em meio ácido submetidas à degradação oxidativa com H₂O₂ a 18%.

Tempo (h)	Teor residual (%)	logC	1/C
0	105,71	2,024	0,009
1	100,98	2,004	0,010
2	101,07	2,005	0,010
3	100,36	2,002	0,010
6	96,93	1,986	0,010
12	96,82	1,986	0,010
24	96,54	1,985	0,010
72	83,49	1,922	0,012
144	65,49	1,816	0,015

Figura 16 - Gráficos obtidos a partir dos dados da Tabela 5 para determinação da ordem de reação junto à degradação oxidativa da paliperidona.

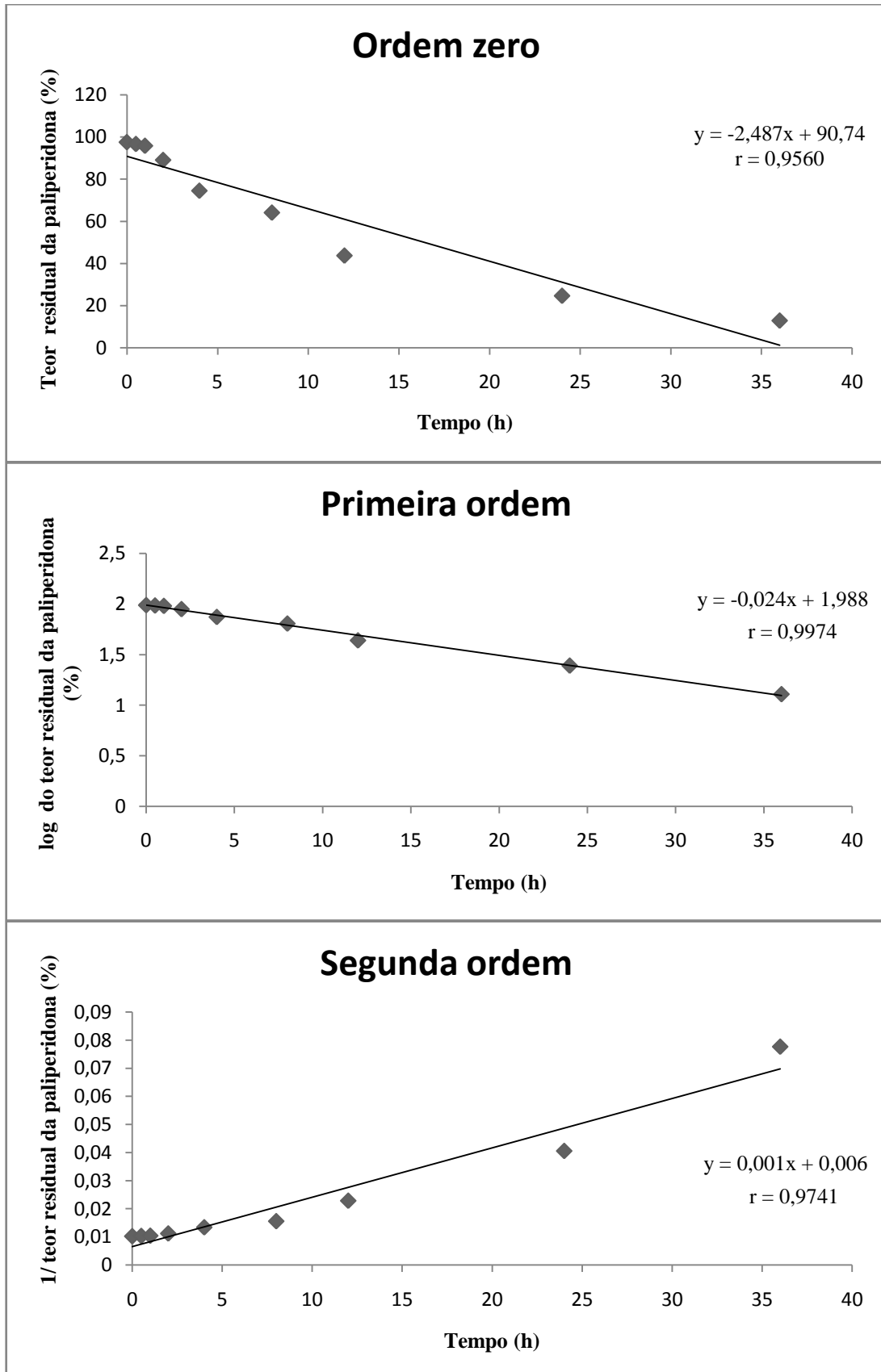


A Tabela 6 descreve os valores de teor residual (%), logC e 1/C calculados a partir da análise de PLP em meio ácido expostas à luz UVA (352 nm). Estes dados foram utilizados para a obtenção dos gráficos de decaimento (Figura 17) e definição das ordens de reação, a partir dos respectivos coeficientes de correlação.

Tabela 6 - Valores de teor residual (%), logC e 1/C obtidos a partir da análise de amostras de paliperidona em meio ácido expostas à luz UVA

Tempo (h)	Teor residual (%)	logC	1/C
0	97,56	1,9893	0,0103
0,5	96,68	1,9853	0,0103
1	95,83	1,9815	0,0104
2	89,09	1,9498	0,0112
4	74,51	1,8722	0,0134
8	64,12	1,8070	0,0156
12	43,72	1,6407	0,0229
24	24,64	1,3917	0,0406
36	12,88	1,1098	0,0777

Figura 17 - Gráficos obtidos a partir dos dados da Tabela 6 para determinação da ordem de reação junto à fotodegradação UVA da paliperidona.

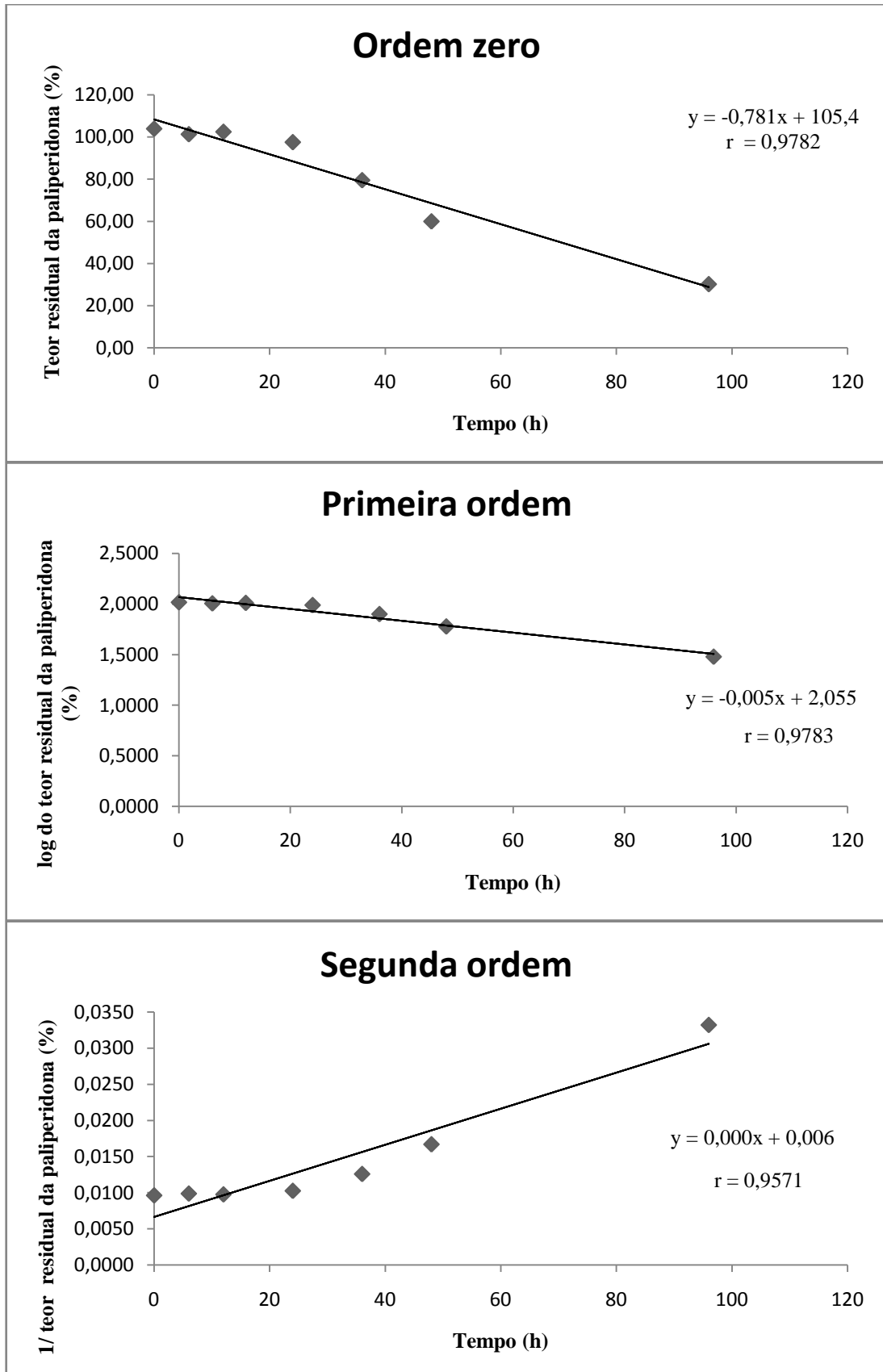


A Tabela 7 descreve os valores de teor residual (%), logC e 1/C calculados a partir da análise de PLP em meio ácido expostas à temperatura de 80°C. Estes dados foram utilizados para a obtenção dos gráficos de decaimento (Figura 18) e definição das ordens de reação, a partir dos respectivos coeficientes de correlação.

Tabela 7 - Valores de teor residual (%), logC e 1/C obtidos a partir da análise de amostras de paliperidona em meio ácido submetidas à degradação térmica à 80°C

Tempo (h)	Teor residual (%)	logC	1/C
0	103,88	2,0165	0,0096
6	101,26	2,0054	0,0099
12	102,42	2,0104	0,0098
24	97,49	1,9890	0,0103
36	79,44	1,9001	0,0126
48	59,91	1,7775	0,0167
96	30,12	1,4789	0,0332

Figura 18 - Gráficos obtidos a partir dos dados da Tabela 7 para determinação da ordem de reação junto à degradação térmica a 80°C da paliperidona.



Com base nos resultados referentes à cinética reacional, foi possível estabelecer a ordem cinética com base nos coeficientes de correlação obtidos que expressam a tendência linear de decomposição da PLP e redução de sua concentração ao longo do tempo em meio ácido. Avaliaram-se em termos de cinética os fatores oxidativo (apresentou degradação e produtos promissores em estudos anteriores), fotolítico e térmico (mostraram diminuição mais intensa do teor ao longo do tempo). Denotaram perfil de cinética de primeira ordem para as condições testadas. De acordo com o conceito de reação de primeira ordem, a degradação de PLP sob essas condições é diretamente proporcional à concentração do reagente, nas condições testadas. Os valores de coeficientes de reação, $t_{90\%}$ e $t_{1/2}$ foram calculados conforme a ordem de reação obtida e estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Constante de reação (k), $t_{90\%}$ e tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) calculados para as condições de degradação forçada, considerando a ordem de reação

	Ordem de reação	k	$t_{90\%}$ (h)	$t_{1/2}$ (h)
Oxidativa	Primeira	0,001353	7,83	51,21
Fotólise	Primeira	0,047718	2,22	14,52
Térmica 80°C	Primeira	0,006903	15,35	100,38

Na Tabela 9, estão apresentados os dados quantitativos obtidos na determinação das soluções de análise com foco na estabilidade das mesmas à análise de rotina, avaliadas por CLAE. Conforme já descrito anteriormente, temperaturas mais altas aumentam a velocidade de degradação química, podendo essa influência ser reduzida pela correta seleção da forma de armazenamento. Observa-se que os valores de teor se mantêm constantes ao longo do tempo de estocagem, em temperatura ambiente e geladeira, indicando a estabilidade do fármaco frente a essas temperaturas e ao solvente ácido (HCl 0,0100 mol/L), ao qual se encontra dissolvido, durante o tempo de estudo.

Tabela 9 - Valores de teor de paliperidona em soluções de análise a 24 µg/mL, em ensaio por CLAE, avaliando a estabilidade em ensaio de rotina, à temperatura ambiente e geladeira

Tempo (h)	Teor médio (%) em temperatura ambiente	Teor médio (%) em geladeira
0	105,32	105,32
12	104,91	103,04
24	104,88	104,95
36	105,24	105,67

A identificação dos produtos de degradação partiu da análise das amostras degradadas através de ensaio por CLUE-EM. Nas Figuras 19, 20, 21 e 22 estão ilustrados os espectros de massas obtidos nas respectivas análises, para cada condição de degradação.

Figura 19 - Espectro de massas referente à análise da paliperidona obtida de comprimidos OROS[®]. Análise em CLUE-EM Q-TOF, ESI positivo.

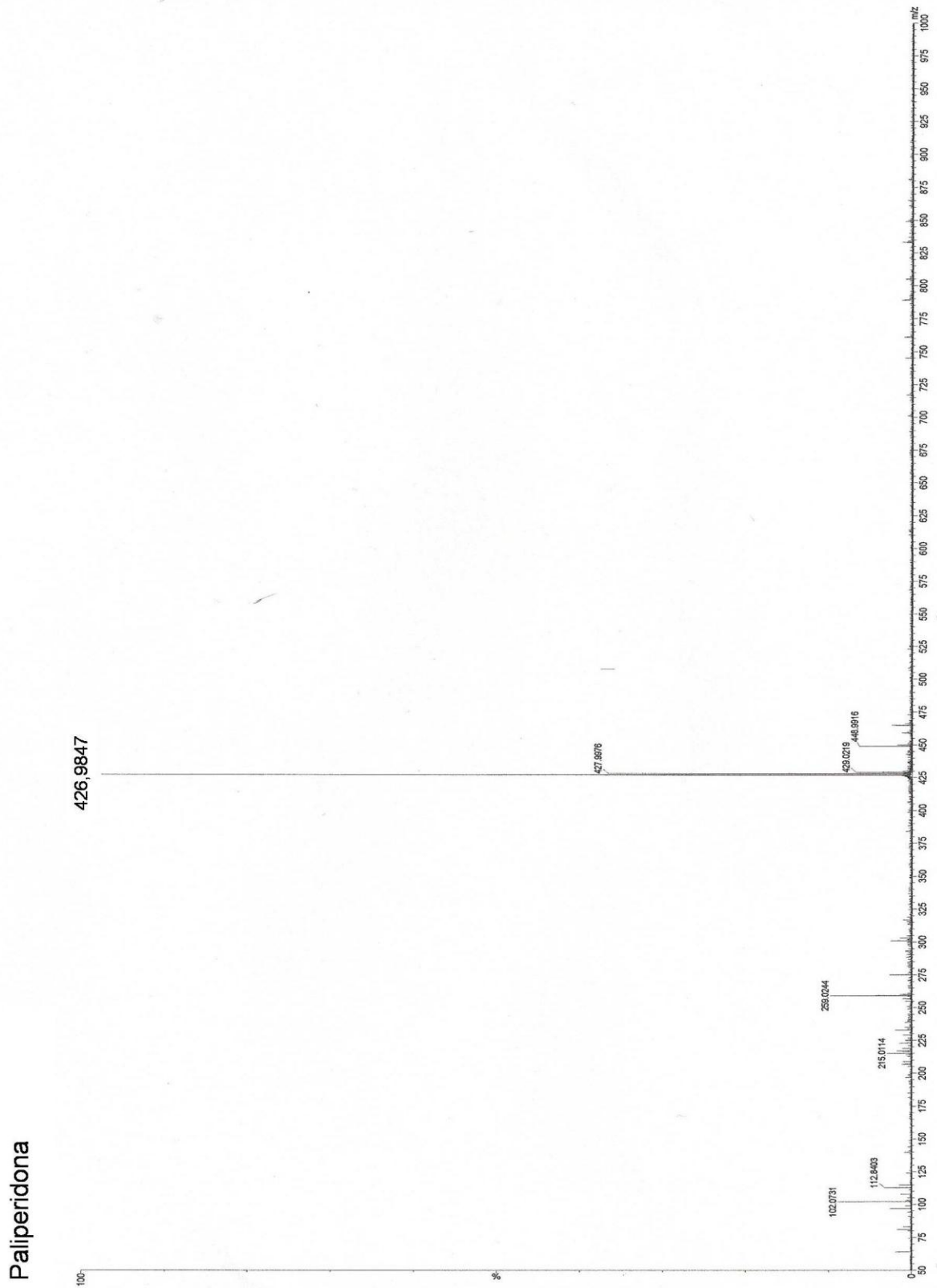


Figura 20 - Espectro de massas referente à análise da paliperidona obtida a partir de amostra submetida à degradação oxidativa por 72 horas. Análise em CLUE-EM Q-TOF, ESI positivo.

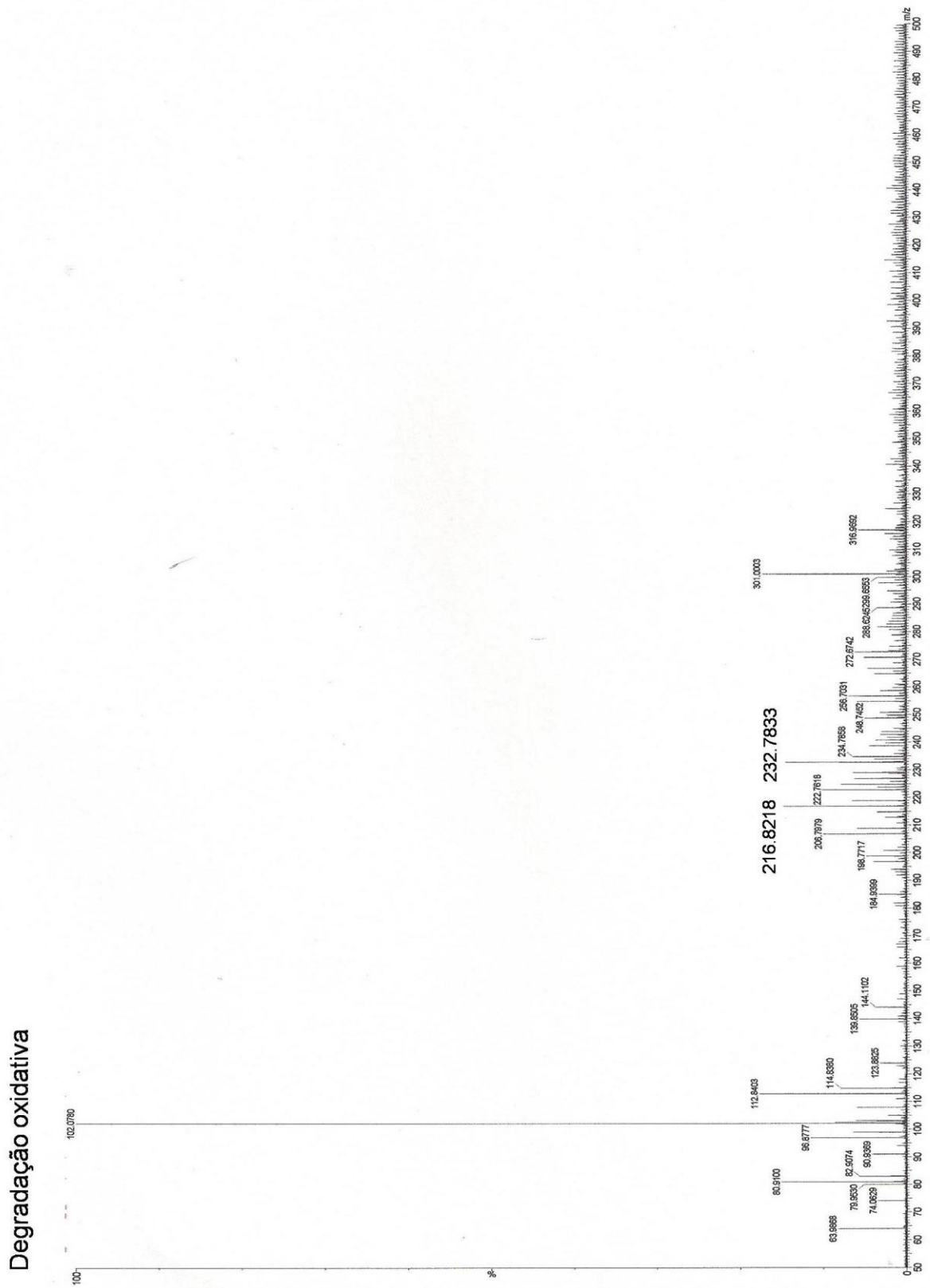


Figura 21 - Espectro de massas referente à análise da paliperidona obtida a partir de amostra submetida à degradação fotolítica por 24h. Análise em CLUE-EM Q-TOF, ESI positivo.

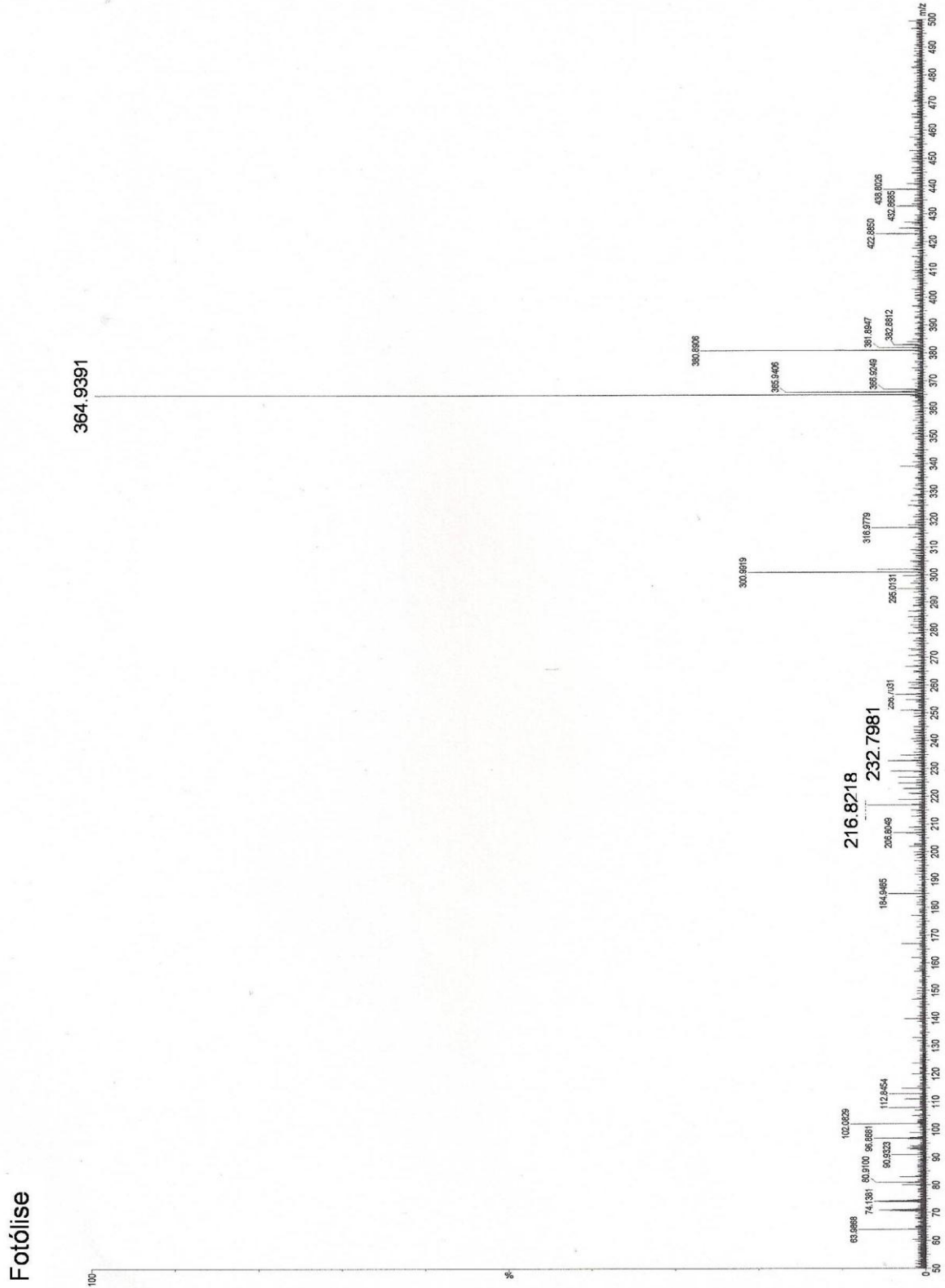
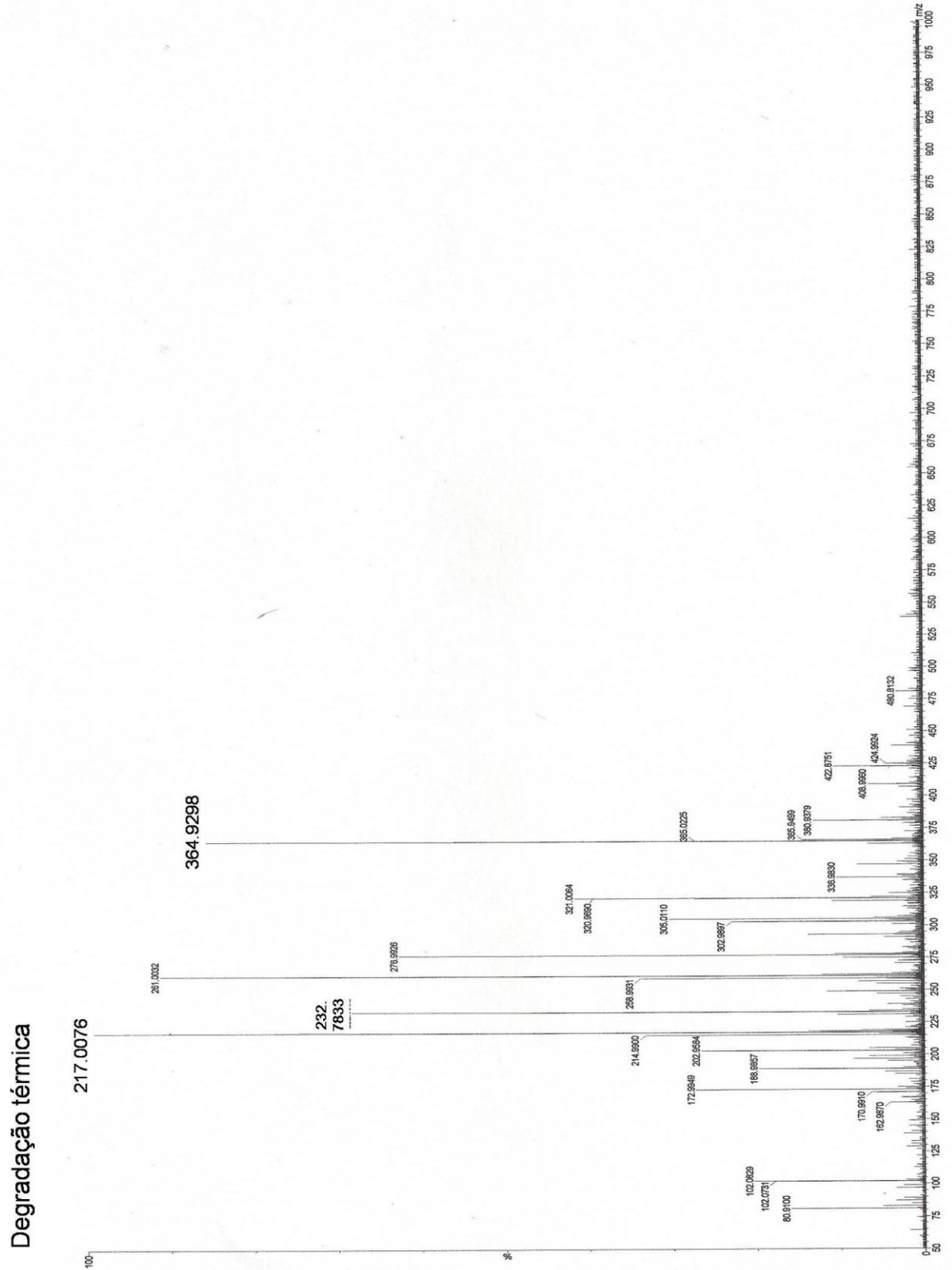


Figura 22 - Espectro de massas referente à análise da paliperidona obtida a partir de amostra submetida à degradação térmica por 96 horas. Análise em CLUE-EM Q-TOF, ESI positivo.

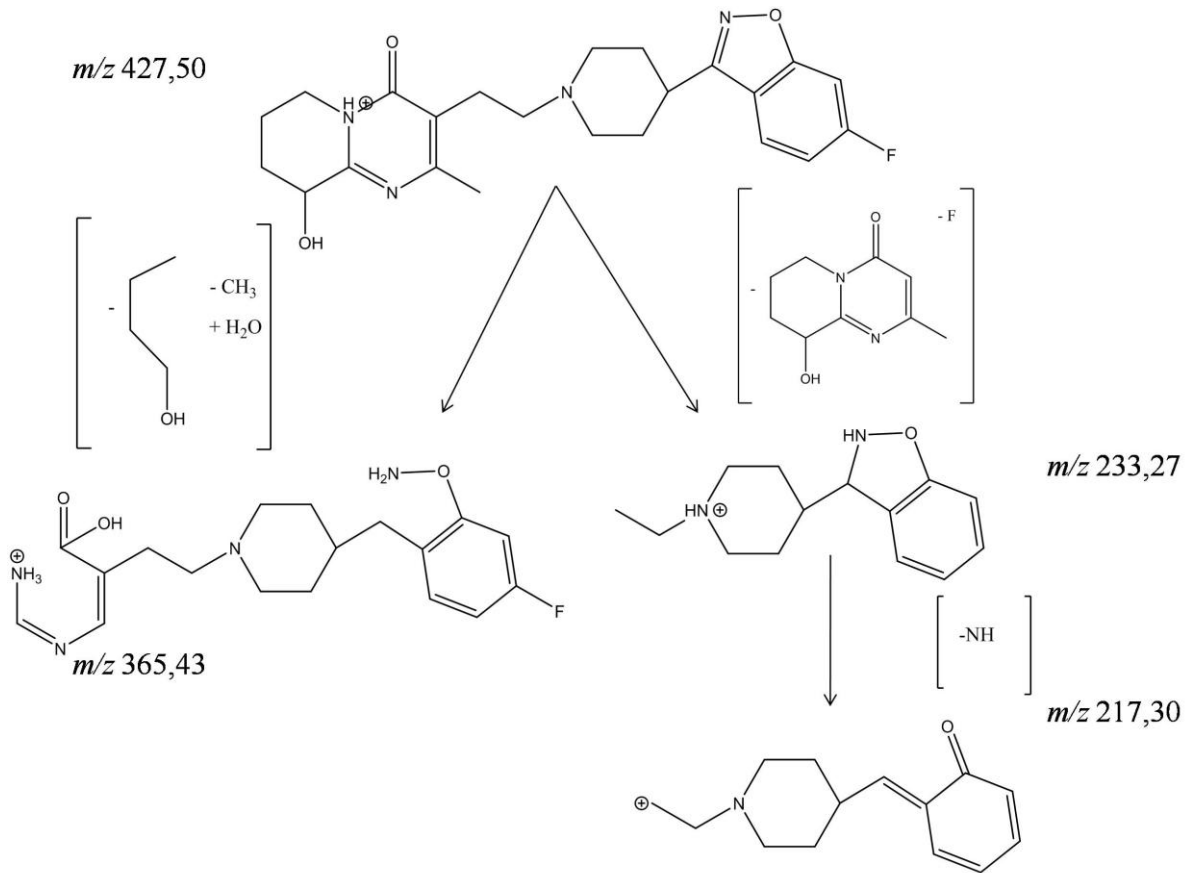


Na Figura 19, o espectro obtido ilustra um pico intenso em m/z 426,9, indicativo da massa molecular $[M+H^+]$ da PLP, sendo este o íon molecular. Nas condições de degradação fotolítica (Figura 21) e térmica (Figura 22) observou-se um pico majoritário em m/z 364,9. Lactamas são suscetíveis a hidrólise e, como descrito anteriormente, a hidrólise é influenciada pela ação da luz e temperatura. Propõe-se, então, a quebra da ligação lactama em meio aquoso, com formação de uma carboxila (SWARBRICK, 2005) e perda do anel ligado à pirimidina (SAWANT; BARGE, 2013). Também ocorre a perda da metila ligada à pirimidina, e a quebra do anel representativo do grupo em estudo, o benzisoxazol, proposto no estudo de Sawant e Barge (2013). O produto de degradação sugerido é denominado ácido(Z)-2-(((Z)-aminometileno)amino)metileno)-4-(4-(2-(aminoxi)-4-fluorobenzil)piperidin-1-il)butanoico.

Por outra rota reacional, sugere-se a perda do anel pirimidina com seus substituintes, juntamente com o átomo de flúor, ligado ao anel benzisoxazol, e a quebra de uma dupla ligação, formando um produto de degradação com m/z 233,26, denominado 3-(1-etilpiperidin-4-il)-2,3-diidrobenzo[d]isoxazol. Na sequência, sugere-se a quebra do anel benzisoxazol, com a perda do átomo de nitrogênio e formação de grupo carbonila, apresentando m/z 217,30, denominado (E)-6-((1-etilpiperidin-4-il)metileno)ciclohexa-2,4-dien-1-ona, produtos formados nas três condições de estudo.

As rotas reacionais estão ilustradas na Figura 23.

Figura 23 - Proposição das estruturas químicas dos produtos de degradação formados a partir da decomposição da paliperidona em amostras obtidas da matriz OROS[®], em sugestão de rotas reacionais.



4 CONCLUSÕES

- As amostras de PLP obtidas a partir do rompimento do sistema osmótico em meio ácido apresentaram maior variabilidade quando comparadas com as processadas diretamente em banho de ultrassom. Além disso, a ruptura da membrana semipermeável é trabalhosa, podendo haver perda de fármaco durante este processo;
- As amostras de PLP obtidas a partir da matriz sintética (comprimidos OROS[®]) em meio ácido sofreram degradação pelos fatores oxidativo, fotolítico, térmico e alcalino;
- As amostras de PLP obtidas a partir da matriz sintética (comprimidos OROS[®]) em meio ácido expostas à degradação ácida (HCl 1 mol/L) por 8h mantiveram-se estáveis, corroborando com a escolha do ácido clorídrico como solvente para obtenção do fármaco a partir desta matriz;
- As amostras de PLP obtidas a partir da matriz sintética (comprimidos OROS[®]) em meio ácido apresentaram degradação oxidativa, fotolítica e térmica seguindo cinética de decomposição de primeira ordem nas condições testadas;
- As amostras de PLP obtidas a partir da matriz sintética (comprimidos OROS[®]) em meio ácido mostraram teor constante, em concentração de análise, à temperatura ambiente e geladeira, indicando estabilidade frente a estas temperaturas e ao solvente ácido, ao qual se encontra dissolvida, durante o tempo de estudo;
- Duas rotas reacionais foram propostas para degradação de PLP obtida a partir da matriz sintética (comprimidos OROS[®]) em meio ácido. A primeira, sugerindo um produto de degradação m/z 365,42 denominado ácido (Z)-2-(((Z)-aminometileno)amino)metileno)-4-(4-(2-(aminoxi)-4-fluorobenzil)piperidin-1-il)butanoico, formado nas condições fotolítica e térmica. A segunda, com dois produtos de degradação: o primeiro, com m/z 233,27, denominado 3-(1-etilpiperidin-4-il)-2,3-diidrobenzo[d]isoxazol, e o segundo, com m/z 217,23, denominado (E)-6-((1-

etilpiperidin-4-il)metileno)ciclohexa-2,4-dien-1-ona, formados nas três condições testadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHUJA, N.; KUMAR, V.; RATHEE, P. Osmotic-controlled release oral delivery system: an advanced oral delivery form. **The farm innovation**, v. 1, n.7, 2012.

ALLEN Jr, L.V.; POPOVICH, N.G.; ANSEL, H.C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 8ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2007.

ANSERMOT, N.; BRAWAND-AMEY, M.; KOTTELAT, A.; EAP, C.B. Fast quantification of ten psychotropic drug and metabolites in human plasma by ultra-high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry for therapeutic drug monitoring. **Journal of Chromatography A**, v. 1292, p. 160-172, 2013.

BARBOSA, F.; MANTOVANI, L.; GARCIA, C.V.; MENDEZ, A.S.L. Studies on paliperidone in OROS tablets: extraction, procedure and chromatographic analysis. **International Scholarly Research Network**, v. 2012, p. 1-9, 2012.

BERNAL, C.; COUTO, A.B.; BREVUGLIERI, S.T.; CAVALHEIRO, E.T.G. Influência de alguns parâmetros experimentais dos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. **Química Nova**, v.25 (5), p. 839-855, 2002.

BINDU, K.H.; REDDY, U.; ANJANEYULU, Y.; SURYANARAYANA, M.V. A stability-indicating ultra-performance liquid chromatographic method for estimation of related substances and degradants in paliperidone active pharmaceutical ingredient and its pharmaceutical dosage forms. **Journal of Chromatographic Science**, v. 50, p. 368-372, 2012.

BOCATO, M.Z.; SIMÕES, R.A.; CALIXTO, L.A.; GAITANI, C.M.; PUPO, M.T.; DE OLIVEIRA, A.R.M. Solid phase microextraction and LC-MS/MS for the determination of paliperidone after stereoselective fungal biotransformation of risperidone. **Analytical Chimica Acta**, v.742, p. 80-89, 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE nº 1, de 29 de julho de 2005. Determina a publicação do guia para a realização de estudos de estabilidade. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 01 ago. 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE nº 45, de 9 de agosto de 2012. Determina a publicação do guia para realização de estudos de estabilidade de insumos farmacêuticos ativos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 10 ago. 2012.

CARSTENSEN, J.T.; RHODES, C.T. Drug stability: Principles and practices. 3rd Edition. New York: Informa Helthcare USA, 2007.

CHEN, H.; ZHAO, L.; LI, G.; LENG, D.; MA, P.; TONG, L.; ZHANG, T. Development and validation of a rapid and sensitive UHPLC-MS/MS method for the determination of paliperidone in beagle dog plasma. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2014.

COELHO, P.M.B.S. **Desenvolvimento de formulações de liberação modificada de ranitidina**. 264 páginas. Dissertação de doutorado. Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, 2007.

DANEL, C.; BARTHÉLÈME, C. AZARZAR, D.; ROBERT H.; BONTE, J.P.; ODOUB, P.; VACCHER, C. Analytical and semipreparative enantioseparation of 9-hydroxyrisperidone, the main metabolite of risperidone, using high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis validation and determination of enantiomeric purity. **Journal of Chromatography A**, v. 1163, p. 228–236, 2007.

DANEL, C.; AZAROUAL, N.; BRUNEL, A.; LANNOY, D.; ODOU, P.; DÉCAUDIN, B.; VERMEERSCH, G.; BONTE, J.P.; VACCHER, C. Configuration stability of 9-hydroxyrisperidone. Kinetics and mechanism of racemization. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 20, p. 1125-1131, 2009.

DE MEULDER, M.; REMMERIE, B.M.M.; DE VRIES, R.; SIPS, L.L.A.; BOOM, S.; HOOIJSCHUUR, E.W.J.; VAN DE MERBEL, N.C.; TIMMERMAN, P.M.M.B.L. Validated LC-MS/MS methods for the determination of rispedione and the enantiomers of 9-hydroxyrisperidone in human plasma and urine. **Journal of Chromatography B**, v.870, p. 8-16, 2008.

ELKIS, H.; LOUZÃ, M.R. Novos antipsicóticos para o tratamento da esquizofrenia. **Revista de Psiquiatria Clínica**, v. 34, p. 193-197, 2007.

EMA. **Paliperidone – Scientific discussion**, 2007.

FINKEL, R.; CUBEDDU, L.X.; CLARK, M.A. **Farmacologia Ilustrada**, 4^a edição, Porto Alegre: Artmed 2010

FORNGREN, B.H. **Liquid chromatography – mass spectrometry in the analysis of radiolabelled compound for positron emission tomography**. Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in Analytical Chemistry. Uppsala University, 2000.

FOWLER, J.A.; BETTINGER, T.L.; ARGO, T.R. Paliperidone extended-release tablets for the acute and maintenance treatment of schizophrenia. **Clinical Therapeutics**, v. 30, p. 231-248, 2008.

GIL, E.S. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. 3ª edição, São Paulo: Pharmabooks, 2010.

GORDON, S. Differential thermal analysis. **Journal of Chemical Education**, p. A87, 1963.

GREEN, B. Paliperidone: a clinical review. **Current Drug Therapy**, v. 4, p. 7-10, 2009.

ICH – International Conference on Harmonization. Stability testing: Photostability testing of new drug substances and products Q1B, 1996.

ICH – International Conference on Harmonization. Stability testing of new drug substances and products Q1A(R2), 2003.

JANDHAV, S.A.; LANDGE, S.B.; CHOUDHARI, P.M.; SOLANKI, P.V.; BEMBALKAR, S.R.; MATHAD, V.T. Stress degradation behaviour of paliperidone, an antipsychotic drug, and development of suitable stability-indicating RP-LC method. **Chromatography Research International**, v. 2011, p. 1-10, 2011.

JANSSEN-CILAG, **Invega® Paliperidona**. São Paulo, 2007.

JANSSEN-ORTHO. **INVEGA – Product Monograph**. Toronto, 2007.

JANSSEN PHARMACEUTICALS. Disponível em: www.janssencns.com/invega/schizoaffective-disorder/dosing-and-administration/oros-technology. Acesso em: 07 nov. 2014, 14:22:12.

JUNG, S.M.; KIM, K.A.; CHO, H.K.; PARK, P.M.; BYUN, W.T.; PATK, J.Y. Cytochrome P450 3A inhibitor itraconazole affects plasma concentrations of risperidone and 9-hydroxyrisperidone in schizophrenic patients. **Clinical Pharmacology & Therapeutics**, v.78 (5), p. 520-528, 2005.

KANCHARLA, S.; SATYANARAYANA, B.; PALADUGU, N.D.; POLUJU, D.; PASHA, S.I. Development and validation of paliperidone in bulk and pharmaceutical formulation by UV spectroscopy. **International Journal of Pharmaceutical Research and Bio-Science**, v. 2(4), p. 230-242, 2013.

KAPUR, S.; SEEMAN, P. Does fast dissociation from the dopamine D2 receptor explain the action of atypical antipsychotics? A new hypothesis. **Am J Psychiatry**, v.158, p. 360-369, 2001.

KARLSSON, P.; DENCKER, E.; NYBERG, S. Pharmacokinetics, dopamine D2 and serotonin 5-HT_{2A} receptor occupancy and safety profile of paliperidone ER in healthy subjects (poster) **18th annual meeting of the European College of Neuropsychopharmacology**; Amsterdam, October 22-26, 2005.

KLICK, S.; MUJISELAAR, P.G.; WATERVAL, J.; EICHINGER, T.; KORN, C.; GERDING, T.K.; DEBETS, A.J.; DE GRIEND, C.S.; SOMSEN, G.W.; DE JONG, G.J. Towards a generic approach for stress testing of drug substances and drug products. **Pharmaceutical Technology**, v.29 (2), p. 48-66, 2005.

KOMMANABOYINA, B.; RHODES, C.T. Trends in stability, with emphasis on stability during distribution and storage. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 25 (7), p. 857-868, 1999.

LASCHMAN, L.; DELUCA, P.; AKERS, M.J. Testes de estabilidade e fundamentos de cinética química. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, v.2, p. 1277-1355, 2001.

LEITE, E.G. **Estabilidade: importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia de fármacos e medicamentos**. Aprovada em 05/01/2006. 178 páginas. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRGS, 2006.

MENDEZ, A.S.L.; CASSOL, J.P.E.; DE CAMARGO, V.B.; MALESUIK, M.D.; GARCIA, C.V. Quantitative Determination of Paliperidone in OROS[®] Tablets by Derivative Spectrophotometric Method – Application in Extraction and Comparison to HPLC. **Current Analytical Chemistry**, v.10, p. 158-165, 2014.

NAGATA S.; JIN-NAI, A.; HIRAI, K.; BABA, M.; HIGASHU, K.; TANAKA, Y. Evaluation of dissolution of osmotic-controlled release paliperidone tablets using the reciprocating cylinder method. **Pharmaceutical Society of Japan**, v. 133, p. 405-410, 2013.

NUDELMAN, N.S. **Estabilidad de medicamentos**. 1^a edição. Buenos Aires: El Ateneo, 1975.

PAGE, C.; CURTIS, M.; SUTTER, M.; WALKER, M.; HOFFMAN, B. **Farmacologia integrada**. 2^a edição. Barueri:Manole, 2004.

PATEL, H.; PATEL, U., KADICAR, H., BHIMANI, B., DASLANYA, D.; PATEL, G. A review on osmotic drug delivery system. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 3(4), p.88-94, 2012.

PATEL, R. B.; PATEL, M. R.; BHATT, K. K.; PATEL, B. G. HPTLC method development and validation: Quantification of paliperidone in formulations and in vitro release study. **Analytical Methods**, v. 2, p. 525-531, 2010.

PEZZINI, B.R.; SILVA, M.A.S.; FERRAZ, H.G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, p. 491-502, 2007.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J.; HENDERSON, G. **Farmacologia**, tradução da 6ª edição, Elsevier, 2007.

RODRIGUES, P.O.; CARDOSO, T.M.; SILVA, M.A.S.; MATOS, J.R. Aplicação de técnicas termoanalíticas na caracterização, determinação da pureza e cinética de degradação da zidovudina (AZT). **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 24 (3), p. 383-387, 2005.

SADOCK, B.J.; KAPLAN, H.I.; SADOCK, V.A. **Compêndio de psiquiatria: ciências do comportamento e psiquiatria clínica**. 9ª edição. Porto Alegre: Artmed, 2007.

SAWANT, S.D. e BARGE, V.U. Identification and characterization of forced degradation products of paliperidone using LC-APCI-Ion Trap-MS. **Journal of Pharmacy Research**, v. 6, p. 39-47, 2013.

SILVA, K.E.R.; ALVES, L.D.S.; SOARES, M.F.R.; PASSOS, R.C.S.; FARIA, A.R.; ROLIM NETO, P.J. Modelos de avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos para a indústria farmacêutica. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30 (2), p. 129-135, 2009.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7ª edição, Rio de Janeiro: LTC, 2012.

SWARBRICK, J. **Pharmaceutical stress testing**. LLC, 2005.

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

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

TRIVEDI, R.K.; JAIN, P.; PATEL, M.C.; CHATRABHUJI, P.M.; TRIVEDI, D.R. A rapid, stability indicating RP-UPLC method for determination of paliperidone palpitrate in a depot injectable formulation. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v.3, p. 87-92, 2013.

VERMA, R.K.; KRISHNA, D.M.; GARG, S. Formulation aspects in the development of osmotically controlled oral drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 79, p. 7-27, 2002.

VERMEIR, M.; NAESSENS, I.; REMMERIE, B.; MANNESNS, G.; HENDRICKX, J.; STERKENS, P.; TALLURI, K.; BOOM, S.; EERDEKENS, M.; OSSELAER, N.; CLETON, A. Absorption, Metabolism, and excretion of paliperidone, a new monoaminergic antagonist, in humans. **Drug metabolism and disposition**, v. 36, p. 769-779, 2008.

VINAY KUMAR, V.; SWAMY, K.; CH, T.; GOUD, A. Enhancement of solubility and physicochemical characterization of paliperidone solid dispersions. **Journal of Advanced Pharmaceutical Sciences**, v.2, p. 278-288, 2012.

YANG, L.P.; PLOSKER, G.L. Paliperidone extended release. **CNS Drugs**, v. 21(5), p. 417-425, 2007.

ANEXOS

ANEXO A - Artigo submetido

Assunto:	Submission Confirmation
De:	J. of Pharmaceutical & Biomedical Analysis (ees.jpba.0.31e904.f36811a5@eesmail.elsevier.com)
Para:	andreasimendez@yahoo.com.br;
Data:	Sábado, 13 de Junho de 2015 21:02

Dear Dr. Andreas Mendez,
Full Length Article

Your submission entitled "Stability of paliperidone in osmotic tablets: decomposition reaction kinetics and degradation products" has been received by the Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/jpba/>.

Your username is: Andreas Mendez
If you need to retrieve password details, please go to: http://ees.elsevier.com/jpba/automail_query.asp

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned by the journal staff.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Elsevier Editorial System
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923> Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

Submissions Being Processed for Author **Andreas Mendez**

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Display results per page.

Action ▲	Manuscript Number ▲▼	Title ▲▼	Initial Date Submitted ▲▼	Status Date ▲▼	Current Status ▲▼
Action Links		Stability of paliperidone in osmotic tablets: decomposition reaction kinetics and degradation products	Jun 14, 2015	Jun 14, 2015	Submitted to Journal

Page: 1 of 1 (1 total submissions)

Display results per page.[<< Author Main Menu](#)