

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**Desenvolvimento e validação de método por cromatografia para determinação  
de ticagrelor em comprimidos revestidos**

Caren Gobetti

Porto Alegre, junho de 2013.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
Faculdade de Farmácia  
Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

**Desenvolvimento e validação de método por cromatografia para determinação  
de ticagrelor em comprimidos revestidos**

Caren Gobetti

Trabalho final da Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso em  
Farmácia

Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr. Cássia Virginia Garcia

Coorientadora: Ma. Rúbia Lazzaretti Toigo

Porto Alegre, junho de 2013.

**“A felicidade às vezes é uma bênção,  
mas geralmente é uma conquista”**

**Paulo Coelho**

## **AGRADECIMENTOS**

À professora Dr. Cássia Garcia pela orientação, pela dedicação, carinho, incentivo e pelo exemplo de ética e competência.

À minha coorientadora Rúbia Lazzaretti Toigo pela dedicação, apoio, amizade e transferência de conhecimento.

À Letícia Sfair pela orientação, amizade e paciência no período de bolsista de iniciação científica.

Aos demais amigos e professores do laboratório 402.

Ao Amauri pela paciência e companheirismo.

E, principalmente, aos meus pais por sempre estarem me apoiando, me incentivando e por sempre acreditarem na minha capacidade e investir na minha formação. À minha irmã Carla pela força e incentivo dedicados a mim durante toda a faculdade.

## **APRESENTAÇÃO**

Os resultados deste trabalho estão apresentados sob a forma de artigo científico. Este contém os seguintes tópicos: Introdução, Materiais e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências e será submetido à Revista Química Nova estando de acordo com suas normas (anexadas no final do trabalho). Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico - Departamento de Produção e Controle de Medicamentos - Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

## SUMÁRIO

1. ARTIGO CIENTÍFICO.....	7
2. ANEXO.....	20

**Desenvolvimento e validação de método por cromatografia para determinação  
de ticagrelor em comprimidos revestidos**

Caren Gobetti<sup>1,a\*</sup>, Rúbia Lazzaretti Toigo<sup>1,b</sup>, Cássia Garcia<sup>1,c</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico, Faculdade de Farmácia,  
UFRGS, Av. Ipiranga 2752 Lab. 402, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

<sup>a</sup> Acadêmica da Faculdade de Farmácia – UFRGS.

<sup>b</sup> Aluna de Doutorado no PPGCF – UFRGS.

<sup>c</sup> Professora Adjunta do Departamento de Produção e Controle de Medicamentos –  
UFRGS.

## **TÍTULO**

Desenvolvimento e validação de método por cromatografia para determinação de ticagrelor em comprimidos revestidos.

## **ABSTRACT**

Ticagrelor is an orally active, reversibly binds of the P2Y<sub>12</sub> receptor that can prevent ADP-mediated platelet activation and has a faster onset of action. A stability-indicating HPLC method for the determination of ticagrelor in coated tables was developed and validated. Chromatographic analysis were performed in a Shimadzu liquid chromatograph, equipped with Phenomenex® C18 column (250x4.6 mm, 5 µm), using a mobile phase composed of acetonitrile:water:triethylamine (57:43:0.5 v/v/v) pH 7.0, at 0.7 mL/min flow and injection volume of 20 µL. The proposed method was successfully applied to ticagrelor in coated tables, showing the method is useful for determination of the drug in routine analysis.

Keywords: ticagrelor, HPLC, stability-indicating assay

## INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), em média 17 milhões de pessoas morrem de doenças cardiovasculares por ano, sendo que 7,1 milhões dessas mortes são devido a doenças coronarianas. A formação de aterotrombose é a principal causa na síndrome coronariana aguda e as plaquetas apresentam uma importante contribuição na formação de trombos.<sup>1</sup>

A terapia antiplaquetária é amplamente utilizada e as diretrizes de tratamento recomendam o uso de agentes antiplaquetários orais incluindo ticagrelor, prasugrel ou clopidogrel em combinação com aspirina para compor a terapia antiplaquetária dupla para a prevenção de eventos isquêmicos recorrentes.<sup>2</sup>

O ticagrelor ([[(1S, 2S, 3R, 5S) -3 - [7 - [[(1R, 2S) -2 - (3,4-difluorofenil) ciclopropil] amino] -5 - (propiltio)-3H-1,2,3-triazolo [4,5-d] pirimidin-3-il] -5 - (2-hidroxietoxi) -1,2-ciclopentanodiol) (Figura 1) é um fármaco que tem seu efeito atribuído à inibição da ligação da adenosina difosfato (ADP) ao seu receptor plaquetário P2Y<sub>12</sub>, e portanto, inibe a agregação plaquetária. O fármaco é indicado para a prevenção de eventos cardiovasculares caracterizados por trombose, infarto do miocárdio ou angina instável em pacientes com síndrome coronariana aguda, e apesar de apresentar o mesmo mecanismo de ação do clopidogrel e do prasugrel (pertencentes a classe dos tienopiridínicos), tem seu efeito reversível enquanto que os demais atuam de forma irreversível.<sup>4,5</sup> Devido a esta característica, a restauração da agregação plaquetária ocorre mais rapidamente, podendo predizer uma redução do risco de complicações hemorrágicas, como por exemplo, em situações na qual a terapia antiplaquetária deve ser interrompida devido a trauma ou cirurgia.<sup>6</sup>

Este fármaco foi aprovado pela Comissão Europeia em dezembro de 2010, aprovado nos Estados Unidos pelo FDA (Food and Drug Administration) em julho de 2011, e pela ANVISA no mesmo ano.<sup>3,4,7</sup> É o primeiro membro de uma nova classe de agentes antiplaquetários, os ciclopentiltriazolopirimidinas, sendo ativo por via oral. Ao contrário dos outros antiplaquetários, não requer ativação metabólica antes de sua ação, o que pode explicar o menor tempo necessário para a inibição plaquetária.<sup>2,8,9</sup> No Brasil, apenas um laboratório detém a comercialização de comprimidos de ticagrelor (Brilinta® - AstraZeneca).

A literatura apresenta determinação de ticagrelor em plasma por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas.<sup>10,11</sup> Entretanto, não há estudos descrevendo um método analítico indicativo de estabilidade para quantificar esta substância na presença de produtos de degradação na forma farmacêutica. Para garantir que um método analítico gere informações confiáveis sobre a amostra e seja adequado para o uso desejado, ele deve ser validado.<sup>12</sup> Segundo a ANVISA, “a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados”.<sup>13</sup>

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), combinada com detectores de UV/visível, é o método mais comumente utilizado na análise farmacêutica e fornece resultado preciso, exato e robusto para a análise quantitativa dos produtos farmacêuticos.<sup>14</sup> É uma técnica que possibilita realizar separações e análises quantitativas de uma grande variedade de compostos presentes em diversos tipos de amostras, em escala de tempo de poucos minutos, com eficiência, resolução e detectabilidade.<sup>15</sup> De acordo com as diretrizes do ICH, teste de estresse do fármaco

pode ajudar a identificar os prováveis produtos de degradação, auxiliando no estabelecimento das vias de degradações e a estabilidade do fármaco.<sup>16</sup>

Considerando-se a análise de produtos farmacêuticos, não há monografia disponível em farmacopeias. Assim, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar um método indicativo de estabilidade por CLAE para determinação de ticagrelor nos comprimidos revestidos, de acordo com as diretrizes oficiais (ICH, 2005 e RE 899/2003).<sup>13,16</sup>

## **PARTE EXPERIMENTAL**

### **1. Materiais**

No preparo da fase móvel utilizou-se acetonitrila grau CLAE (Tedia), água purificada obtida por Millipore® Direct-Q3UV (Molsheim, France) com trietilamina 0,5% (Merck®) e ácido orto-fosfórico 85% (Merck®) para ajuste do pH. Para determinações de pH foi empregado o potenciômetro Digimed, modelo DM-20 (São Paulo, Brasil), e para sonicação banho de ultrassom o modelo USC 2850 (São Paulo, Brasil). Metanol grau CLAE (Tedia) foi utilizado para dissolução da substância química de referência e amostra. Comprimidos, contendo 90 mg de ticagrelor, medicamento comercializado pela empresa AstraZeneca, foram obtidos de fontes comerciais. Utilizou-se ticagrelor substância química de referência (SQR), com teor de pureza de 99,7%, adquirida do Sequoia Research Products (Reino Unido). Os excipientes presentes na formulação placebo foram manitol, fosfato de cálcio dibásico, amidoglicolato de sódio, hiprolose, estearato de magnésio, hipromelose, dióxido de titânio, talco, macrogol e óxido férrico amarelo.

## **2. Sistema cromatográfico**

O desenvolvimento do método por CLAE foi realizado em um sistema Shimadzu 20A, equipado com controlador CBM-20A, bomba LC-20AT, amostrador automático SIL-20 AC, forno CTO-20AC e detector PDA SPD-M20A. O software utilizado para controle e aquisição dos dados foi o LC-solution.

As análises cromatográficas foram realizadas conforme as condições descritas na Tabela 1.

## **3. Caracterização da SQR de ticagrelor**

Utilizou-se a técnica de espectroscopia na região do infravermelho (IV). A caracterização da SQR de ticagrelor foi realizada em espectrofotômetro FT-IR Perkin Elmer, modelo Spectrum BX. Neste equipamento de IV não é necessária a formação de pastilha de KBr, pois a amostra é introduzida diretamente no equipamento.

## **4. Preparo do padrão e amostra**

A solução padrão estoque de ticagrelor SQR (150 µg/mL) foi preparada em metanol. Uma solução contendo 75 µg/mL de ticagrelor foi obtida por diluição da solução estoque em fase móvel.

Para o preparo da amostra, determinou-se o peso médio de vinte comprimidos de ticagrelor que foram triturados até a formação de um pó homogêneo.<sup>19</sup> Preparou-se uma solução em metanol na concentração de 750 µg/mL de ticagrelor, a qual foi submetida a banho de ultrassom por 30 minutos. Após filtração em papel filtro, uma alíquota foi retirada e transferida para balão volumétrico (BV) e utilizou-se fase móvel como diluente, obtendo-se uma concentração final de 75 µg/mL. As soluções foram filtradas em membrana 0,45 µm antes da injeção.

## 5. Validação do método analítico

A validação foi conduzida de acordo com os guias oficiais.<sup>13,16,20</sup> Os parâmetros de validação avaliados foram: especificidade, linearidade, precisão (repetibilidade e precisão intermediária), exatidão e robustez.

### Especificidade

A especificidade do método analítico foi determinada pela análise de amostra placebo e pelo estudo de degradação forçada da amostra do fármaco, com o objetivo de propor um método indicativo de estabilidade. O fármaco foi submetido a condições de hidrólise ácida, básica, fotólise, oxidação e temperatura. Todas as amostras foram comparadas com uma amostra controle e a pureza do pico foi verificada através de uma ferramenta disponível no software do equipamento.

- Hidrólise ácida: alíquota de 5,0 mL da solução estoque de ticagrelor (450 µg/mL) foi transferida para BV de 25 mL e completou-se o volume com HCl 0,1 M. Após 24 horas, alíquota de 5,0 mL foi retirada para BV de 10 mL e neutralizada com NaOH 0,1 M. A amostra foi filtrada em membrana de 0,45 µm.

- Hidrólise básica: alíquota de 5,0 mL da solução estoque de ticagrelor (450 µg/mL) foi transferida para BV de 25 mL e completou-se o volume com NaOH 0,1 M. Após 24 horas, alíquota de 5,0 mL foi retirada para BV de 10 mL e neutralizada com HCl 0,1 M. A amostra foi filtrada em membrana de 0,45 µm.

- Efeito da luz UV-A: alíquota de 2,0 mL da solução estoque de ticagrelor (450 µg/mL) foi transferida para uma cubeta e exposta a uma câmara de radiação UV (100 x 18 x 17 cm) revestida com espelhos e equipada com lâmpada de UV-A emitindo radiação a 352 nm. Após 2 horas, alíquota de 1,0 mL foi retirada para BV

de 10 mL e diluída com fase móvel. Preparou-se uma solução amostra controle sob as mesmas condições, protegida da luz, para análise. As amostras foram filtradas em membrana de 0,45 µm.

- Efeito da luz UV-C: alíquota de 2,0 mL da solução estoque de ticagrelor (450 µg/mL) foi transferida para cubeta e exposta a uma câmara de radiação UV (100 x 18 x 17 cm) revestida com espelhos e equipada com lâmpada de UV-C modelo F30W T8 emitindo radiação a 254 nm. Após 2 horas, alíquota de 1,0 mL foi retirada para BV de 10 mL e diluída com fase móvel. Preparou-se uma solução amostra controle sob as mesmas condições, protegida da luz, para análise. As amostras foram filtradas em membrana de 0,45 µm.

- Degradação oxidativa: alíquota de 5,0 mL da solução estoque de ticagrelor (450 µg/mL) foi transferida para BV de 25 mL e completou-se o volume com peróxido de hidrogênio 3 %. Após 2 horas, alíquota de 5,0 mL foi retirada para BV de 10 mL e completou-se o volume com fase móvel. A amostra foi filtrada em membrana de 0,45 µm.

- Temperatura: alíquota de 5,0 mL da solução estoque de ticagrelor (450 µg/mL) foi colocada em estufa mantida por 60 °C. Após 2 horas, alíquota de 1,0 mL foi retirada para BV de 10 mL e diluída com fase móvel. A amostra foi filtrada em membrana de 0,45 µm.

### Linearidade

Para o preparo das curvas padrão, alíquotas da solução estoque de ticagrelor (150 µg/mL) foram diluídas com fase móvel para obter as concentrações de 45,0; 60,0; 75,0; 90,0; e 105,0 µg/mL. A linearidade foi avaliada a partir de três

curvas analíticas e os dados foram estatisticamente avaliados através da análise de variância (ANOVA) e do valor do coeficiente de correlação da curva analítica.

### Precisão

O teste de precisão foi avaliado através da repetibilidade (precisão intradia) e precisão intermediária (precisão interdia) das soluções amostra contendo ticagrelor.

Preparou-se uma solução em metanol na concentração de 750 µg/mL de ticagrelor a qual foi submetida a banho de ultrassom por 30 minutos. Após filtração em papel filtro, uma alíquota foi retirada e transferida para balão volumétrico e utilizou-se fase móvel como diluente, obtendo-se uma concentração final de 75 µg/mL.

A repetibilidade foi determinada pela análise de 6 amostras no mesmo dia e a precisão intermediária também foi realizada em 6 replicatas e em diferentes dias (n=3), totalizando 18 análises e um analista diferente.

### Exatidão

A exatidão do método foi determinada pela recuperação de quantidades conhecidas de substância química de referência de ticagrelor adicionada às soluções amostras. Alíquotas de 2,0 mL da solução estoque de ticagrelor (750 µg/mL) foram transferidas para BV 20 mL. Alíquotas da solução padrão estoque de SQR (150 µg/mL) correspondentes a 10, 20, e 40 % da concentração de 75 µg/mL foram adicionadas às soluções amostras, resultando nas concentrações de 7,5; 15,0 e 30,0 µg/mL.

Foi preparada simultaneamente uma solução amostra e uma solução da substância química de referência na concentração de 75 µg/mL. As demais soluções

foram preparadas em triplicada. Os resultados foram expressos como porcentagem da substância química de referência recuperada da amostra.

### Robustez

A robustez foi avaliada por pequenas modificações nas condições cromatográficas estabelecidas, tais como: variação no valor de pH da fase móvel (pH 6,5 e pH 7,5), proporção da fase orgânica (56% e 58%), fluxo (0,6 e 0,8 mL/min) e comprimento de onda (253 e 257 nm). Para avaliar a influência desses fatores realizou-se análise do tempo de retenção, simetria, pratos teóricos e teor dos comprimidos nas diferentes condições.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **1. Caracterização da SQR**

#### **1.1. Espectroscopia na região do infravermelho**

As atribuições das principais frequências características de ticagrelor foram sugeridas baseadas na literatura.<sup>17,18</sup> Em  $3290\text{ cm}^{-1}$ , é possível observar a presença de uma banda, a qual pode ser atribuída ao estiramento N-H. A banda de absorção presente na faixa  $1650\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$  ao estiramento C=C, entre  $1580\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída ao núcleo aromático e entre  $1450\text{-}1380\text{ cm}^{-1}$  a flexão  $\text{CH}_3$ . Entre  $1270\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$ , observa-se bandas resultantes das vibrações referentes à ligação C-F. As bandas em  $879\text{ cm}^{-1}$  e  $826\text{ cm}^{-1}$  podem ser atribuídas as deformações angulares de C-H fora do plano do benzeno.

O espectro de absorção obtido para a SQR de ticagrelor na região do infravermelho está de acordo com as características da molécula.

## **2. Seleção das condições cromatográficas**

Neste trabalho, os parâmetros analíticos foram estudados para demonstrar que o método é confiável para a quantificação do fármaco. Considerando trabalhos anteriores que descrevem métodos analíticos em fluidos biológicos<sup>10,11</sup>, o foco foi desenvolver um método simples, utilizando-se colunas e solventes disponíveis, que podem ser facilmente adotados no controle de qualidade de rotina para matéria-prima e comprimidos contendo ticagrelor.

Primeiramente, definiu-se o comprimento de onda a ser utilizado, através da varredura no espectro do ultravioleta, mostrando que o ticagrelor absorve intensamente em 255 nm. Durante o desenvolvimento do método, testaram-se diferentes colunas (C8 e C18), de diferentes fabricantes, e diversas composições de fase móvel variando-se porcentagem entre acetonitrila:água e metanol:água utilizando ou não trietilamina, em diferentes proporções, pHs e fluxos. Da mesma forma, a amostra de ticagrelor foi submetida a diferentes tempos de extração com uso de banho de ultrassom e de agitador mecânico. Foi demonstrado que o uso de agitador mecânico foi desnecessário, pois não influenciava no aumento da extração de ticagrelor das amostras e o tempo de extração com uso de banho de ultrassom de 30 minutos demonstrou ser adequado. Devido a solubilidade satisfatória, o metanol utilizado para diluir as soluções estoque e a fase móvel utilizada para preparar as soluções nas concentrações finais, permitiu a obtenção de simetria e pratos teóricos adequados aos fins analíticos. A solução amostra se manteve estável por até 60 dias a 4°C.

As condições cromatográficas finais empregadas para a determinação de ticagrelor estão descritas na Tabela 1. Sob essas condições, o tempo de retenção foi

9,7 minutos, a simetria do pico observada foi de 1,10 e o número de pratos teóricos foi 18502.

### **3. Especificidade**

Os resultados da avaliação da especificidade do método demonstraram que não há interferência dos excipientes na eluição do fármaco conforme demonstrado na Figura 2.

Quando a solução de ticagrelor foi submetida a hidrólise ácida, após 24 horas, ocorreu uma degradação de 62% e formação de pico adicional próximo a 5 min (Figura 3A). Na hidrólise básica, após 24 horas, ocorreu uma degradação de 64%, e também houve a formação de pico adicional. (Figura 3B).

Na exposição à luz UV-A (352 nm), por 2 horas, não houve redução do teor de ticagrelor, conforme observado na figura (Figura 3C). Frente à luz UV-C (254 nm) por 2 horas, apresentou maior formação de produtos de degradação, com um pico detectado em 10,2 minutos, e foi observada degradação de 23% do fármaco, indicando que o ticagrelor pode ser considerado um fármaco fotossensível (Figura 3D). A resolução entre o pico de degradação e o fármaco foi de 1,72.

Na oxidação com peróxido de hidrogênio 3%, após 2 horas, ocorreu a formação de pequeno pico adicional entre os tempos de 5,5 min e 6 min e não foi observado pico correspondente ao ticagrelor, podendo-se concluir que todo o ticagrelor presente na solução sofreu degradação (Figura 3E).

Quando a solução foi submetida à temperatura de 60 °C durante 2 horas, não foi detectado degradação bem como formação de pico adicional no cromatograma (Figura 3F).

A exposição ao agente de degradação resultou numa redução da área do pico de ticagrelor e aparecimento de picos adicionais na exposição a hidrólise ácida, hidrólise básica, luz UV-C e na degradação oxidativa. A análise dos cromatogramas de degradação da amostra e a aplicação da pureza do pico demonstraram que o pico de ticagrelor estava puro em todas as situações, permitindo concluir que os produtos de degradação não interferem na análise do fármaco.

#### **4. Linearidade**

Os resultados da avaliação da linearidade demonstraram que o método apresentou correlação linear entre a área e as concentrações, no intervalo de 45,0 a 105,0 µg/mL. Obteve-se a equação da reta  $y = 44,58x + 178,78$  e análise da regressão linear demonstrou um coeficiente de correlação muito próximo da unidade (0,9990). A análise de variância efetuada sobre os valores de área absoluta da curva padrão de ticagrelor, demonstrou regressão linear significativa ( $p < 0,05$ ), não havendo desvio de linearidade ( $F_{\text{calc}} = 2,97 < F_{\text{crit}} = 3,71$ ;  $p = 0,05$ ).

#### **5. Precisão**

A precisão do método foi demonstrada pela repetibilidade (intradia) e precisão intermediária (interdia), sendo expressa pelo desvio padrão relativo (DPR) de uma série de leituras. O teor encontrado na determinação de ticagrelor nas amostras analisadas no primeiro dia foi de 102,78 %. Os valores experimentais obtidos para a determinação de ticagrelor estão expressos na Tabela 2. Os valores de DPR encontrados foram inferiores a 2%, indicando que o método proposto é preciso.

## **6. Exatidão**

A exatidão do método foi avaliada pelo método de adição de padrão e o percentual de recuperação médio obtido de 99,61%, como demonstrado na Tabela 3. As análises foram realizadas em triplicata para cada nível avaliado (10, 20 e 40 %), portanto conclui-se que o método é capaz de medir exatamente o teor de ticagrelor.

## **7. Robustez**

Conforme observado, pequenas variações não afetaram a quantificação do fármaco e não há alterações significativas nos parâmetros de performance como pratos teóricos e simetria, com exceção dos tempos de retenção, que variaram de 8,4 a 11,1 minutos (Tabela 4).

## **CONCLUSÃO**

O método de CLAE proposto para determinação de ticagrelor em comprimidos revestidos demonstrou ser simples, específico, linear, preciso, exato e robusto. Portanto, o método por ser recomendado para o uso em controle de qualidade de rotina, visto que, até o momento, não há nenhum método oficial. Além disso, demonstrou ser indicativo de estabilidade, possibilitando identificar a presença de produtos de degradação sem interferência nas análises.

## REFERÊNCIAS

1. Sinha, N.; *Indian Heart Journal*. **2012**, *64*, 497.
2. Davis, E. M.; Knezevich, J. T.; Teply, R. M.; *Clin. Pharm.: Adv. and Appl.* **2013**, *5*, 67.
3. <http://www.anvisa.gov.br>, acessada em Maio 2013.
4. Huber, K.; Hamad, B.; Kirkpatrick, P.; *Nat. Rev. Drug Discovery*. **2011**, *10*, 255.
5. Nawarskas, J. J.; Clark, M. S.; *New Therapy Update*. **2011**, *19*, 95.
6. <http://www1.astrazeneca-us.com/pi/brilinta.pdf>, acessada em Abril 2013.
7. <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm263964.htm> acessada em Maio 2013.
8. Judy, W.M.; *Clin. Ther.* **2012**, *34*, 1209.
9. Teng, R.; Oliver, S.; Hayes, M. A.; Butler, K.; *Drug Metab. Dispos.* **2010**, *38*, 1514.
10. Sillén, H.; Cook, M.; Davis, P.; *J. Chromatogr., B.* **2010**, *878*, 2299.
11. Sillén, H.; Cook, M.; Davis, P.; *J. Chromatogr., B.* **2011**, *879*, 2315.
12. Ribani M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, C. S. F.; Melo, L. F. C.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 771.
13. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA; RE nº 899 de 29/05/2003: *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*, Ministério da Saúde: Brasil 2003.
14. Watson, G. D.; *Pharmaceutical Analysis: A textbook for pharmacy students and pharmaceutical chemists*, 2ª ed., Churchill Livingstone: London, 2005.
15. Collins, C. H.; Braga, G. L.; Bonato, P. S.; *Fundamentos de Cromatografia*, 1ª ed., Editora Unicamp: Campinas, 2006.
16. ICH; *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, Q2B(R1): Guideline on Validation of Analytical Procedure-Methodology, 2005.
17. Pavia, D. L.; Lampman, G. M.; Kriz, G. S.; Vyvyan, J. R.; *Introduction to Spectroscopy: A guide for students of organic chemistry*, 4th ed., Brooks/Cole: South Melbourne, 2009.
18. Silverstein, R. M.; Webster, F. X.; Kiemle, D. J.; *Identificação espectrométrica de compostos orgânicos*, 7ª ed., LTC: Rio de Janeiro, 2007.
19. *Farmacopeia Brasileira*, 5ª ed., Atheneu: São Paulo, 2010.
20. *The United States Pharmacopeia*, 35th ed., United States Pharmacopoeial Convention: Rockville, 2012.

## Figuras

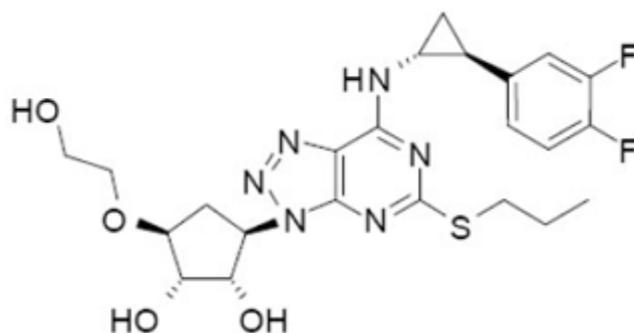


Figura 1. Estrutura química de ticagrelor.

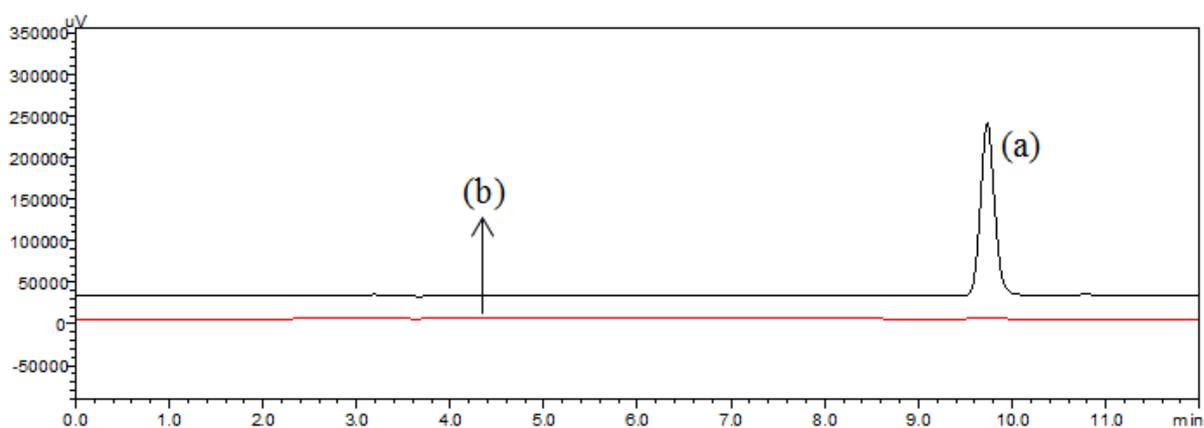


Figura 2. Cromatograma obtido com a solução SQR (a) e solução placebo(b).

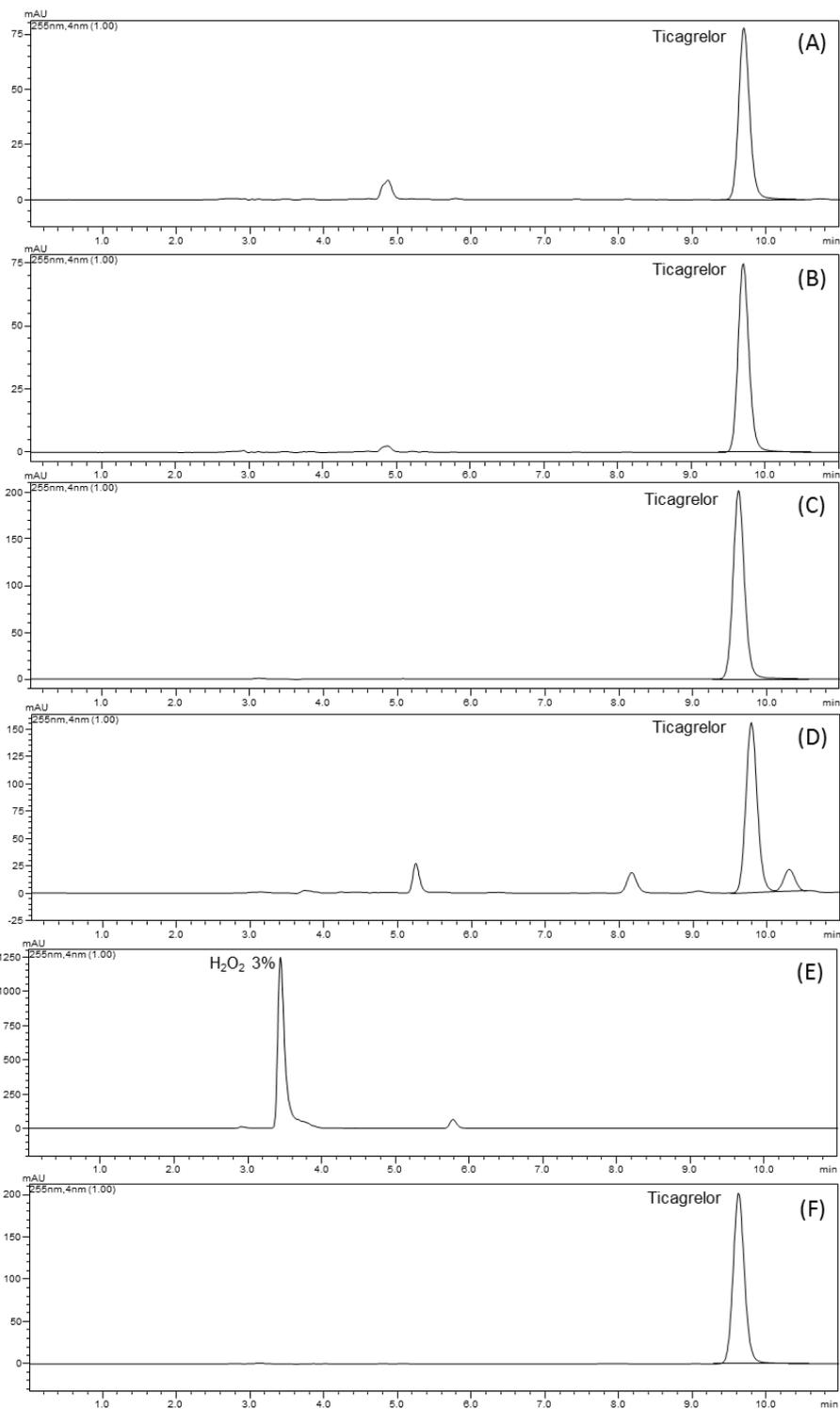


Figura 3. Cromatogramas obtidos de ticagrelor: após degradação ácida (HCl 0,1 M, 24h) (3A); degradação básica (NaOH 0,1 M, 24h) (3B); degradação na luz UV-A (352 nm / 2h) (3C); degradação na luz UV-C (254 nm / 2h) (3D); degradação oxidativa (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3%, 2h) (3E) e degradação térmica (60°C, 2h) (3F).

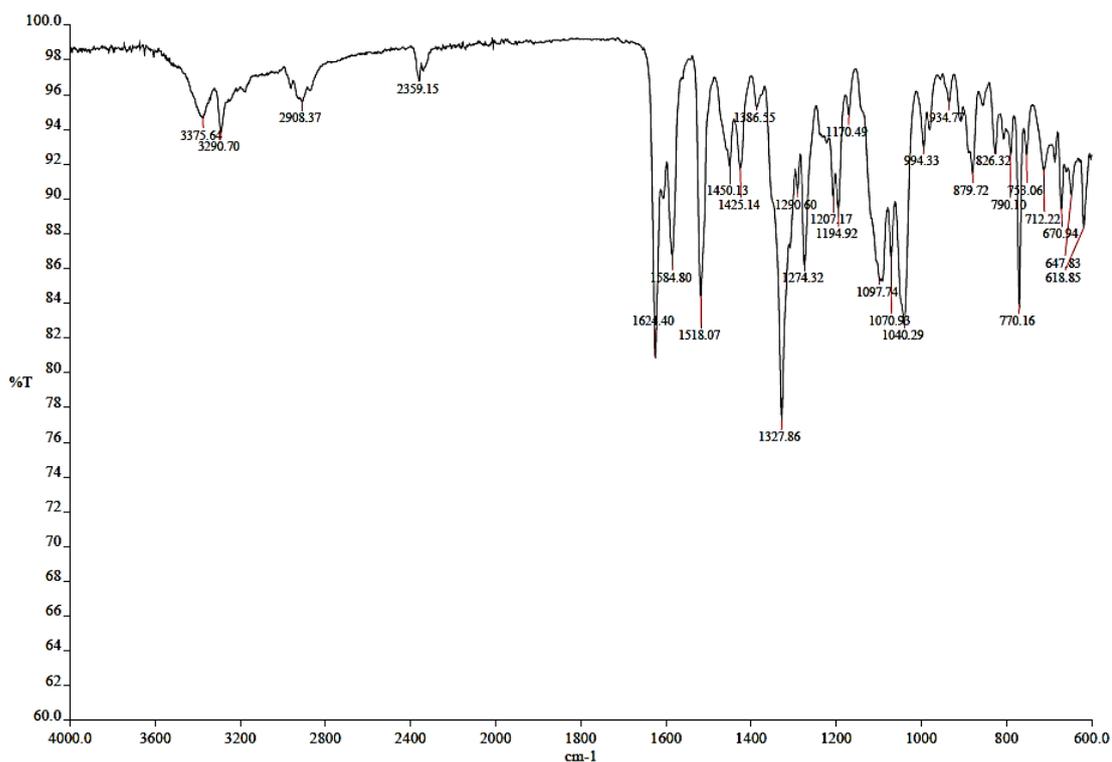


Figura 4. Espectro de absorção na região do IV da SQR de ticagrelor.

## Tabelas

Tabela 1. Condições cromatográficas finais para determinação de ticagrelor.

Parâmetro	Descrição
Coluna	coluna Phenomenex® C18 Luna (250x4,6mm, 5,0 µm)
Temperatura	25 °C
Fase móvel	acetonitrila:água:triethylamina (57:43:0,5 v/v/v), pH 7,0
Vazão	0,7 mL/min
Deteção	255 nm
Volume de Injeção	20 µL

Tabela 2. Precisão do método analítico por cromatografia líquida para determinação de ticagrelor.

	Precisão intradia (%)	DPR (%)
Dia 1	102,78	0,38
Dia 2	102,88	0,82
Dia 3	104,09	0,66
	Precisão interdia (%)	DPR(%)
	103,25	0,71

Tabela 3. Exatidão do método analítico por cromatografia líquida para determinação de ticagrelor.

Amostra	Quantidade de SQR (µg/mL)		% Recuperação
	Adicionada	Recuperada	
1	7,5	7,43	99,12
2	15,0	14,93	99,57
3	30,0	30,04	100,14

Tabela 4. Robustez do método analítico por cromatografia líquida para determinação de ticagrelor.

Variação	Variação investigada	Simetria	Pratos teóricos	Tempo de retenção (min)	Doseamento (%)
pH	6,5	1,13	18120	9,7	102,58
	7,5	1,13	17698	9,6	102,77
Fluxo (mL/min)	0,6	1,12	19001	11,1	101,35
	0,8	1,13	16659	8,4	101,90
% Fase orgânica	56%	1,13	18993	9,9	102,34
	58%	1,12	16448	9,3	103,43
Comprimento de onda (nm)	253	1,13	17887	9,6	102,50
	257	1,13	17896	9,6	102,59

## 1. ANEXO

Regras para publicação na Revista Química Nova.

### **Normas de publicação**

**Geral:** Serão considerados para publicação na Revista Química Nova manuscritos em Português, Inglês e Espanhol, que cubram as áreas tradicionais da Química bem como artigos sobre Ensino de Química, História da Química, Política Científica, etc, além de artigos de áreas afins, desde que tenham acentuado conteúdo químico. Os trabalhos devem se encaixar dentro de uma das modalidades abaixo:

**Artigos Originais:** refere-se a trabalhos inéditos de pesquisa. Devem seguir a forma usual de apresentação, contendo Introdução, Resultados e Discussão, Parte Experimental etc, de acordo com as peculiaridades de cada trabalho. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

**Artigos de Revisão:** destinados à apresentação do progresso em uma área específica de Química, com o objetivo de dar uma visão crítica do estado da arte do ponto de vista do especialista altamente qualificado e experiente. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

É imprescindível que, na referida área, o autor tenha publicações que comprovem a sua experiência e qualificação. Antes do envio do manuscrito, o autor deverá submeter à editoria, por e-mail, um resumo da revisão pretendida e lista de publicações, acompanhados de uma carta explicativa da pertinência do trabalho. O

material será analisado pelos Editores e, uma vez aprovado, será solicitado ao autor o envio do manuscrito completo, dentro das normas de QN, e só então será dado início ao processo de avaliação pelos assessores.

O Corpo Editorial de QN poderá, eventualmente, convidar pesquisadores qualificados para submeter artigo de revisão.

**Artigos sobre Educação:** trabalhos de pesquisas relacionadas ao ensino de Química e divulgação de experiências inovadoras no ensino de graduação e pós-graduação. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

**Notas Técnicas:** trabalhos de comunicação de métodos, validação de métodos, técnicas, aparelhagens ou acessórios desenvolvidos no laboratório de origem do autor do manuscrito. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc e todas as páginas deverão ser numeradas.

**Assuntos Gerais:** abordagem de assuntos de interesse geral dos químicos, tais como política científica, programas de graduação e pós-graduação, história da química. etc. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas etc. e todas as páginas deverão ser numeradas.

**Preparação de Manuscritos:** Todos os trabalhos deverão ser digitados em espaço duplo, utilizando somente Microsoft Word. A seguir, deve ser gerado um único arquivo no formato .pdf, do trabalho todo, para ser submetido através do sistema on line de QN. A revista não aceita a submissão de trabalhos por outra forma.

A primeira página deverá conter o título do trabalho, nome e endereço dos autores. Havendo autores com diferentes endereços, estes deverão vir imediatamente após o nome de cada autor. Os autores deverão ser agrupados por

endereço. O autor para correspondência, que deverá ser o mesmo que submete o artigo on line, deverá ser indicado com asterisco (\*) e seu e-mail colocado no rodapé da página (um só e-mail).

A segunda página deverá conter o título e o resumo do trabalho em inglês (abstract), com no máximo 100 (cem) palavras, e a indicação de 3 palavras-chave (keywords), também em inglês.

As figuras (incluindo gráficos, esquemas, etc) deverão ser em número máximo de 7 figuras simples e ter qualidade gráfica adequada (usar somente fundo branco). Para número maior ver o item Material Suplementar. As figuras, tabelas, esquemas, etc deverão ser colocadas após as referências e devidamente identificadas pelo respectivo número. Se escaneadas, deverão ser em alta resolução (800 dpi/bitmap para traços).. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente, além de boa qualidade gráfica. Considerar que as figuras deverão ter largura máxima de uma coluna (8,5 cm).

Figuras coloridas terão custo de publicação repassado aos autores, quando da publicação. Esse valor só poderá ser informado aos autores quando o trabalho estiver previsto para ser publicado, ocasião em que a gráfica fornece o orçamento. A publicação de figuras coloridas na versão online é isenta de custos.

Para figuras, gráficos, esquemas, tabelas, etc idênticos aos já publicados anteriormente na literatura, os autores deverão pedir permissão para publicação junto à empresa/sociedade científica que detenha os direitos autorais e enviá-la à editoria de QN junto com a versão final do manuscrito.

As referências deverão ser numeradas consecutivamente no texto, na forma de expoentes, após a pontuação (se houver). A lista de referências deverá ser

colocada no final do texto. As legendas das figuras, gráficos e esquemas deverão ser colocadas em uma única folha à parte, separadas das figuras. A seguir, deverão ser colocadas as figuras, os gráficos, os esquemas, as tabelas e os quadros. Colocar os títulos acima de cada tabela. No texto, deverá ser indicada apenas a inserção de cada um(a).

## **Referências**

### ***Revistas:***

Será utilizada a abreviatura da revista como definida no Chemical Abstracts Service Source Index (ver <http://www.cas.org/content/references/corejournals>). Caso a abreviatura autorizada de uma determinada revista não puder ser localizada e não for óbvio como o título deve ser abreviado, deve-se citar o título completo.

1. Varma, R. S.; Singh, A. P.; J. Indian Chem. Soc. 1990, 67, 518.

2. No caso especial da revista citada não ser de fácil acesso, é recomendado citar o seu número de Chemical Abstract, como segue:

Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; Izv. Vyssh. Uchebn. Zadev.; Khim. Khim. Tekhnol. 1976, 19, 708. (CA 85:78051s).

3. Caso o trabalho tenha doi, mas não a referência completa, citar doi da seguinte maneira:

Vidotti, M.; Silva, M. R.; Salvador, R. P.; de Torresi, S. I. C.; Dall'Antonia, L. H.; Electrochimica Acta (2007), doi:10.1016/j.electacta.2007.11.029.

É recomendado o uso de referências compostas na medida do possível, em lugar de uma lista de referências individuais. O estilo das referências compostas é o seguinte:

4. Varela, H.; Torresi, R. M.; J. Electrochem. Soc. 2000, 147, 665; Lemos, T. L. G.; Andrade, C. H. S.; Guimarães, A. M.; Wolter-Filho, W.; Braz-Filho, R.; J. Braz. Chem. Soc. 1996, 7, 123; Ângelo, A. C. D.; de Souza, A.; Morgon, N. H.; Sambrano, J. R.; Quim. Nova 2001, 24, 473.

**Patentes:**

Devem ser identificadas da seguinte forma (na medida do possível o número do Chemical Abstracts deve ser informado entre parênteses).

5. Hashiba, I.; Ando, Y.; Kawakami, I.; Sakota, R.; Nagano, K.; Mori, T.; Jpn. Kokai Tokkyo Koho 79 73,771 1979. (CA 91:P193174v)

6. Kadin, S.B.; US pat. 4,730,004 1988. (CA 110:P23729y)

7. Eberlin, M. N.; Mendes, M. A.; Sparrapan, R.; Kotiaho, T. Br PI 9.604.468-3, 1999.

**Livros:**

com editor(es):

8. Regitz, M. Em Multiple Bonds and Low Coordination in Phosphorus Chemistry; Regitz, M.; Scherer, O. J., eds.; Georg Thieme Verlag: Stuttgart, 1990, cap. 2.

sem editor(es):

9. Cotton, F.A.; Wilkinson, G.; Advanced Inorganic Chemistry, 5th ed., Wiley: New York, 1988.

**Programas de computação (Softwares):**

10. Sheldrick, G. M.; SHELXL-93; Program for Crystal Structure Refinement; Universidade de Göttingen, Alemanha, 1993.

***Teses:***

11. Velandia, J. R.; Tese de Doutorado, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil, 1997.

***Material apresentado em Congressos:***

12. Ferreira, A. B; Brito, S. L.; Resumos da 20a Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas, Brasil, 1998.

***Páginas Internet:***

<http://www.s bq.org.br/jbcs>, acessada em Junho 2001.

***Material não publicado:***

Para material aceito para publicação: Magalhães, U. H.; J. Braz. Chem. Soc., no prelo. Para material submetido mas ainda não aceito: Magalhães, U. H.; J. Braz. Chem. Soc., submetido. Para trabalho não publicado ou comunicação pessoal: Magalhães, U. H.; trabalho não publicado ou Magalhães, U. H., comunicação pessoal. Os resultados não publicados só poderão ser citados com a permissão explícita das pessoas envolvidas na sua obtenção.

Os autores devem procurar seguir, naquilo que for possível, as normas recomendadas pela IUPAC, inclusive o Sistema Internacional de Unidades. Sobre a nomenclatura de compostos (orgânicos e inorgânicos) já há traduções para a língua portuguesa publicadas em QN. Quanto aos Símbolos e Terminologias, onde não há

tradução, espera-se que adaptação seja feita pelos autores, criando então, paulatinamente, um conjunto de normas em português.

**Submissão dos Artigos:** A QN oferece aos autores a submissão on line, que pode ser acessada através do registro de Login e Senha. É possível registrar-se em nossa home page (<http://quimicanova.sbq.org.br>) usando a opção Novo Usuário. Após estar cadastrado no sistema, o autor pode facilmente seguir as instruções fornecidas na tela. Será solicitada a submissão de um único arquivo do manuscrito completo, em formato .pdf. Está disponível uma ferramenta para gerar o arquivo .pdf, a partir de arquivo .doc ou .rtf, com envio automático para o e-mail do autor. Tão logo seja completada a submissão, o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que este seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail com o número de referência do trabalho.

Se não for recebido o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão.

O autor poderá acompanhar, diretamente através do sistema, a situação de seu manuscrito.

Ao fazer a submissão, solicita-se uma carta de apresentação, que deverá ser digitada no local indicado, sendo obrigatória a apresentação dos e-mails de todos os autores. Além disso, devem ser enviados também os nomes, instituições a que pertencem e e-mails de três ou quatro possíveis assessores, que não podem pertencer à(s) mesma(s) instituição(ões) dos autores.

**Material Suplementar:** Esta modalidade foi criada para que na versão impressa da revista apareça o número estritamente necessário de figuras e tabelas (6 a 7 figuras simples). Ressalta-se que, como este material ficará disponível apenas na versão on line, figuras, tabelas e ilustrações coloridas apresentadas na forma de material suplementar não terão custo repassado aos autores, nem limite de páginas. Porém, devem ter boa qualidade gráfica.

O material suplementar deverá ser colocado no final do trabalho, com indicação clara. Deverá ser submetido um único documento .pdf, incluindo o material suplementar.

Os Editores poderão solicitar aos autores, em qualquer fase da tramitação, a separação de Material Suplementar.

**Manuscritos Revisados:** Manuscritos enviados aos autores para revisão deverão retornar à Editoria dentro de prazo máximo de trinta dias ou serão considerados retirados, sendo que o sistema encerra o processo, não permitindo que seja reaberto. Vencido o prazo, deverá ser feita nova submissão, dando início a um novo processo.

A submissão do manuscrito revisado deverá ser feita pelo mesmo autor, usando o Login e a Senha registrados anteriormente. O autor deve seguir as instruções fornecidas na tela, para envio do documento .pdf completo da versão revisada. Deve ser redigida uma carta de encaminhamento, em pdf, aos assessores, detalhando as alterações feitas na nova versão e justificando as alterações sugeridas nos pareceres e que não foram aceitas pelos autores. Esses dois arquivos devem ser enviados através da seção Envio de Nova Versão, na Página do Autor, no sistema de submissão on line de QN.

Tão logo seja completada a submissão o sistema informará automaticamente, por e-mail, o código temporário de referência do manuscrito, até que ele seja verificado pela editoria. Então será enviado e-mail contendo o número de referência do trabalho.

Se não receber o e-mail com código de submissão temporária, por algum motivo, a submissão não foi completada e o autor terá prazo máximo de 5 (cinco) dias para completá-la. Depois desse prazo, o sistema não permite o envio, devendo ser feita nova submissão.

O autor poderá acompanhar, diretamente através do sistema, o status de seu manuscrito.

**Versão Final:** Quando for solicitada a versão final, o autor receberá instruções específicas quanto a programas para envio de arquivos (texto, figuras, tabelas, etc) . Arquivos em formato .pdf não são mais solicitados nessa fase.

Se as Figuras forem escaneadas, deverão ser em alta resolução (800 dpi/bitmap para traços) com extensão tif ou jpg, desde que nas dimensões especificadas pelos Editores. As fotos ou desenhos com cor (300 dpi/grayscale) deverão ser enviadas com extensão tif/jpg, com largura máxima total de 8,5 cm para não haver problemas ao aplicá-las no padrão da Revista. Outras extensões possíveis: cdr, eps, cdx ou opj. No caso particular de esquemas contendo estruturas químicas, estas deverão ter sempre a mesma dimensão, para que possam ser reduzidas uniformemente.

A Editoria de QN reserva-se o direito de efetuar, quando necessário, pequenas alterações nos manuscritos, de modo a adequá-los às normas da revista ou tornar seu estilo mais claro, respeitando, naturalmente, o conteúdo do trabalho.

Qualquer que seja a natureza do manuscrito submetido, ele deve ser original em nível de metodologia, informação, interpretação ou crítica. A qualificação do trabalho será atestada por dois consultores, indicados pela Editoria.

### **Copyright ©2012 Sociedade Brasileira de Química**

Para publicação, requer-se que os manuscritos submetidos a esta revista não tenham sido publicados anteriormente e não sejam submetidos ou publicados simultaneamente em outro periódico. Ao submeter o manuscrito, os autores concordam que o copyright de seu artigo seja transferido à Sociedade Brasileira de Química (SBQ), se e quando o artigo for aceito para publicação. O copyright abrange direitos exclusivos de reprodução e distribuição dos artigos, inclusive separatas, reproduções fotográficas, microfilmes ou quaisquer outras reproduções de natureza similar, inclusive traduções. Nenhuma parte desta publicação pode ser reproduzida, armazenada em bancos de dados ou transmitida sob qualquer forma ou meio, seja eletrônico, eletrostático, mecânico, por fotocópia, gravação, mídia magnética ou algum outro modo, sem permissão por escrito da detentora do copyright. Embora todo esforço seja feito pela SBQ, Editores e Conselho Editorial para garantir que nenhum dado, opinião ou afirmativa errada ou enganosa apareçam nesta revista, deixa-se claro que o conteúdo dos artigos e propagandas aqui publicados são de responsabilidade, única e exclusiva, dos respectivos autores e anunciantes envolvidos. Conseqüentemente, a SBQ, o Conselho Editorial, os Editores e respectivos funcionários, diretores e agentes isentam-se, totalmente, de qualquer responsabilidade pelas conseqüências de quaisquer tais dados, opiniões ou afirmativas erradas ou enganosas.