

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

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE ANÁLISE PARA  
QUANTIFICAÇÃO, ENSAIO DE DISSOLUÇÃO E ESTUDO DE  
ESTABILIDADE DE OMARIGLIPTINA**

JULIANA EMANUELLI

Porto Alegre

2021



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

**DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA DE ANÁLISE PARA  
QUANTIFICAÇÃO, ENSAIO DE DISSOLUÇÃO E ESTUDO DE  
ESTABILIDADE DE OMARIGLIPTINA**

Tese apresentada por **JULIANA  
EMANUELLI** para a obtenção do  
TÍTULO DE DOUTOR em Ciências  
Farmacêuticas.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Elfrides Eva Scherman Schapoval

Porto Alegre

2021

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Doutorado – Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos – da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 22.03.2021, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Andreas Loureiro Mendez

Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS

Profa. Dr. Nathalie Ribeiro Wingert

Universidade Federal da Bahia – UFB

Profa. Dr. Juliana Bidone

Universidade Federal de Pelotas - UFPel

#### CIP - Catalogação na Publicação

Emanuelli, Juliana

Desenvolvimento de metodologia de análise para quantificação, ensaio de dissolução e estudo de estabilidade de omarigliptina / Juliana Emanuelli. -- 2021.

153 f.

Orientadora: Elfrides Eva Scherman Schapoval.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2021.

1. Omarigliptina. 2. Métodos analíticos. 3. Validação. 4. Estabilidade. 5. Dissolução. I. Scherman Schapoval, Elfrides Eva, orient. II. Título.

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico da Faculdade de Farmácia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.



## AGRADECIMENTOS

Eu acredito que todos nós somos abençoados por uma força que tudo movimenta, que tudo torna capaz, basta acreditarmos que é possível e fazer acontecer! Eu agradeço a essa força que está em mim, que me fortalece todo instante e nunca me deixou desistir de conquistar meus sonhos!

Dedico em especial à minha orientadora, Dra. Elfrides Eva Scherman Schapoval, que bem como me chamava me acolheu como “filha” e nesses quatro anos tornou possível esse trabalho, sempre muito preocupada com que nada faltasse e com um grande amor fez tudo acontecer! Sinto-me lisonjeada em concluir seu trabalho de uma vida dedicada a esta grande área chamada Farmácia. Seus ensinamentos serão levados para a vida e resumidos em uma frase: “Insista, persista e nunca desista”.

À Profa. Dra. Nadia Maria Volpato meu agradecimento pelo importante auxílio prestado e grande visão analítica, fundamentais para execução deste trabalho.

Aos professores do grupo de pesquisa que contribuíram com seus conhecimentos para andamento deste trabalho, Dr. Martin Steppe, Dra. Cássia Garcia, Dr. Andreas Loureiro Mendez, Dr. Tércio Oppe.

Aos meus queridos colegas LCQFar, Manoelly, Júlia, Fábio, Caren, Joanna, Gabriele, Lívia, Leonardo, Lionel, Nathalie, Mari e Caroline meu agradecimento pela ajuda e amizade.

À minha amiga-irmã Thais Franciele Maito que foi um dos presentes que eu ganhei nessa vida. Sempre presente, me acompanhou nessa jornada e me fortaleceu quando mais precisei, me emprestava seu ombro amigo, me incentivava, cuidava de mim melhor do que eu mesma. Toda a minha gratidão.

Às minhas amigas Clarice, Pricila, Milene, Natália P., Natália G., pelos bons momentos de descontração e principalmente apoio com palavras nos momentos em que precisei de um ombro amigo.

Ao meu amor, Yuri Kozowski pelo companheirismo, cuidado, pela preocupação com o meu conforto e principalmente pela compreensão da minha falta em alguns momentos de desafios deste trabalho.

Aos meus pais Júlio e Gelci que sempre incentivaram meus estudos e sempre vibraram pelo meu sucesso, agradeço pelo amor incondicional e por

acreditarem em mim. Aos meus irmãos Carol, Luis César e Rafa e às minhas tias Elimor e Jurema pelo apoio e torcida pelo meu sucesso. À minha afilhada Helena, meu grande amor que tornou meus dias mais alegres.

Ao Programa de Pós-Graduação desta Faculdade pela oportunidade de aprimoramento científico e crescimento pessoal e à CAPES pelo apoio financeiro.

## APRESENTAÇÃO

Em concordância com as normas vigentes no Regimento do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, o presente trabalho foi redigido na forma de capítulos, com encarte de publicação, para uma melhor compreensão e discussão dos resultados obtidos. Assim, este exemplar encontra-se dividido da seguinte forma:

- Introdução;
- Objetivo geral e objetivos específicos;
- Revisão Bibliográfica;
- Capítulo I: Caracterização da substância química de referência de omarigliptina;
- Capítulo II: Desenvolvimento de método analítico indicativo de estabilidade por CLAE para quantificação de omarigliptina em comprimidos, estudo da cinética de degradação oxidativa e fotolítica e identificação dos produtos de degradação formados sob condição oxidativa;
- Capítulo III: Ensaio de dissolução para comprimidos de omarigliptina;
- Capítulo IV: Desenvolvimento e comparação de métodos analíticos para quantificação de omarigliptina em comprimidos;
- Discussão geral
- Conclusões
- Referências



## RESUMO

Diabetes mellitus do tipo 2 é uma doença crônica que afeta milhares de pessoas no mundo e que vem aumentando a sua magnitude ao longo dos tempos, sendo associada ao desenvolvimento de outras doenças como problemas cardíacos, hepáticos, retinopatia, neuropatia, entre outras. O controle da glicemia é fundamental para prevenir as doenças associadas e ter qualidade de vida. Agentes hipoglicemiantes são indicados para o tratamento da doença, como a omargliptina (OMG), aprovada no Japão em 2015 e pertencente a classe dos inibidores da dipeptidil peptidase 4 (DPP-4), enzima responsável pela inativação das incretinas hormonais importantes no processo do controle glicêmico. A literatura científica apresenta poucos estudos sobre validação de metodologia analítica de quantificação dessa substância e carece de estudos relacionados à sua forma farmacêutica. Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi desenvolver e validar metodologia analítica para a quantificação de OMG na forma farmacêutica, assim como realizar um estudo de estabilidade, cinética de degradação e identificação dos produtos de degradação majoritários e também realizar um ensaio de dissolução dos comprimidos. A substância química de referência (SQR) foi primeiramente caracterizada através dos seguintes ensaios: calorimetria exploratória de varredura, ponto de fusão, espectrofotometria na região do infravermelho e ultravioleta, ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas. Um método indicativo de estabilidade por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foi proposto além de um estudo de degradação forçada em condições ácida, básica, oxidativa, fotolítica e térmica. A cinética de degradação nos meios oxidativo e fotolítico foi avaliada com posterior identificação dos produtos de degradação obtidos. Um ensaio da dissolução dos comprimidos em diferentes meios foi proposto, além do desenvolvimento de um método mais sustentável por espectroscopia UV derivada e sua comparação com o método desenvolvido por CLAE. A SQR foi devidamente caracterizada pelos métodos propostos. Foi possível desenvolver e validar um método indicativo de estabilidade. A cinética de degradação fotolítica e oxidativa seguiu ordem zero e os dois produtos de degradação oxidativos obtidos foram devidamente identificados por cromatografia líquida de ultra performance acoplado à espectrometria de massas, e, foi possível também,

propor a rota de degradação dos mesmos. O ensaio de dissolução conduzido mostrou rápida dissolução dos comprimidos nos meios testados e o método de dissolução foi devidamente validado. Foi possível desenvolver e validar um método mais sustentável por UV derivada e a análise comparativa com o método por CLAE indicou não haver diferenças estatísticas significativas.

**PALAVRAS-CHAVES:** Omarigliptina, métodos analíticos, validação, estabilidade, cinética, produtos de degradação, dissolução.

## ABSTRACT

Type 2 diabetes mellitus is a chronic disease that affects thousands of people worldwide and that has increased in magnitude over time, being associated with the development of other diseases such as cardiovascular complications, kidney failure, retinopathy, neuropathy, among others. Glycemic control is essential to prevent associated diseases and have quality of life. Hypoglycemic agents are indicated for the treatment of the disease, such as omarigliptin (OMG), approved in Japan in 2015 and belonging to the class of dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) inhibitors, an enzyme responsible for inactivating the important hormonal incretins in the control process glycemic. The scientific literature presents few studies on analytical methods for quantifying this substance and lacks studies related to its pharmaceutical form. Thus, the objective of this work was to develop and validate analytical methodology for the quantification of OMG in the pharmaceutical form, as well as to carry out a stability study, degradation kinetics and identification of major degradation products and also to carry out a dissolution test of the tablets. The reference chemical substance was first characterized by the following tests: differential scanning calorimetry, melting point, infrared and ultraviolet spectrophotometry, nuclear magnetic resonance and mass spectrometry. A stability-indicating method by high performance liquid chromatography (HPLC) was proposed in addition to a study of forced degradation under acidic, basic, oxidative, photolytic and thermal conditions. The degradation kinetics in the oxidative and photolytic media was evaluated with subsequent identification of the obtained degradation products. An assay for dissolving the tablets in different media was proposed, in addition to the development of an eco-friendly method by derived UV spectroscopy and its comparison with the developed HPLC method. The reference chemical substance was properly characterized by the proposed methods. It was possible to develop and validate a stability-indicating method. The kinetics of photolytic and oxidative degradation followed zero order and the two oxidative degradation products obtained were duly identified by ultra-performance liquid chromatography coupled with mass spectrometry, and it was also possible to propose their degradation route. The dissolution test conducted showed rapid dissolution of the tablets in the media tested and the dissolution method was

properly validated. It was possible to develop and validate an eco-friendly method by derived UV and the comparative analysis with the method by HPLC indicated that there were no statistically significant differences.

**KEYWORDS:** Omarigliptin, analytical methods, validation, stability, kinetics, degradation products, dissolution.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1 Complicações da hiperglicemia no corpo (Fonte: FERREIRA et al., 2011)	41
Figura 3.2 Mecanismo de ação das gliptinas (Fonte: autoral)	44
Figura 3.3 Evolução das descobertas dos inibidores da dipeptidil-peptidase 4	44
Figura 3.4 Estrutura química da omarigliptina	46
Figura 3.5 Relação entre o perfil de degradação "potencial", obtido no estudo de estresse e o perfil de degradação "real", obtido no estudo de estabilidade de longa duração (Fonte: ANVISA, 2015b)	53
Figura 3.6 Sistema de Classificação Biofarmacêutica	56
Figura 4.1 Curva de DSC da SQR obtida em rampa de aquecimento de 10°C/min e fluxo de nitrogênio de 50 mL/min	65
Figura 4.2 Espectro de infravermelho de omarigliptina	66
Figura 4.3 Espectro obtido para a SQR de omarigliptina na região do ultravioleta	68
Figura 4.4 Espectro de RMN <sup>1</sup> H da SQR de omarigliptina	68
Figura 4.5 Espectro de massas obtido para a SQR da omarigliptina em ionização por eletronebulização positiva	70
Figure 5.1 Chromatograms obtained from analysis of OMG sample in acid (a), alkaline (b), photolytic UV-C (c), oxidative (d), thermal (e) and photolytic UV-A (f) forced degradation. The blue line represents OMG standard and the red line represents OMG sample forced degradation. In oxidative degradation (e) the red line represents the hydrogen peroxide 10% control.	85
Figure 5.2 Plots of OMG kinetics of photolytic UV-C degradation (a-c) and oxidative degradation (d-f) (zero-order reaction – a and d), LN of concentration (first order reaction- b and e) and 1/residual concentration (second-order reaction – c and f) versus time.	89
Figure 5.3 Spectrums obtained by LC/MS, (a) OMG (m/z 399), (b) oxidative degradation product (m/z 337), (c) oxidative degradation product (m/z 321)	91
Figure 6.1 Graph of the OMG profiles obtained in the different media tested.	109
Figure 6.2 Chromatogram obtained for the solutions of the tablets (blue line) and the excipients formulation (red line)	111
Figure 7.1 Zero-order absorption spectra (a), first-order derivative spectra (b) of OMG sample and standard solution and placebo at concentration of 60 µg mL <sup>-1</sup>	126
Figure 7.2 Pareto chart obtained for analyzing changes in the different conditions	129



## LISTA DE TABELAS

Tabela 3-1 Critérios laboratoriais para diagnóstico de normoglicemia, pré-diabetes e Diabete Mellitus adotados pela SBD.....	39
Tabela 4-1 Frequência de absorção das principais bandas na região do infravermelho da omarigliptina e suas respectivas atribuições .....	67
Tabela 4-2 Atribuição dos sinais teóricos para o espectro de RMN 1H de OMG.....	69
Table 5-1 Precision and accuracy of method obtained for omarigliptin in tablet samples. ....	87
Table 5-2 The <i>Plackett-Burman</i> design for robustness.....	87
Table 5-3 Residual concentration of OMG in oxidative and photolytic UV-C degradation .....	88
Table 5-4 Degradation rate constant (k), half-life ( $t_{1/2}$ ) and $t_{90}$ for OMG solution submitted to oxidative and photolytic UV-C. ....	90
Table 6-1 Different dissolution media used, concentrations found in the different times and the initial and final pH value obtained in the evaluation of sink conditions for OMG tablets (n=3, p=0.05).....	108
Table 6-2 Intra-day and inter-day precision results (n=3) for OMG dissolved in 500mL of the medium and analyzed by HPLC.....	111
Table 6-3 Mean of recovery (%) and relative standard deviation (%) for OMG added (n=3).....	112
Table 7-1 Results obtained from linearity analysis .....	127
Table 7-2 Results of intraday and interday precision and accuracy for OMG tablets by the proposed UV derivative spectrometric method and the reported HPLC method..	128
Table 7-3 Values obtained in the study of the robustness .....	129
Table 7-4 Assay results obtained by Derivative UV Spectroscopy and HPLC methods for OMG in the pharmaceutical formulation.....	130



## SUMÁRIO

<b>1.INTRODUÇÃO</b> .....	25
<b>2.OBJETIVOS</b> .....	31
2.1 Objetivo Geral.....	31
2.2 Objetivos Específicos.....	31
<b>3.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	35
3.1 Diabetes Mellitus.....	35
3.1.1 Tipos de diabetes.....	36
3.1.2 Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2) .....	38
3.1.3 Complicações da doença.....	40
3.1.4 Terapias existentes.....	41
3.1.4.1 Inibidores da enzima dipeptidil-peptidase IV .....	43
3.2 Omarigliptina.....	45
3.2.1 Literatura científica abordando métodos analíticos aplicados a quantificação da omarigliptina .....	47
3.3 Controle de qualidade de medicamentos – validação de métodos analíticos.....	48
3.4 Métodos analíticos de quantificação .....	50
3.4.1 Espectroscopia UV derivada.....	50
3.4.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).....	51
3.5 Avaliação da estabilidade .....	52
3.6 Ensaio de dissolução.....	55
<b>4.CAPÍTULO I: CARACTERIZAÇÃO DA SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA DE OMARIGLIPTINA</b> .....	61
4.1. Introdução.....	61
4.2 Materiais e métodos.....	62
4.2.1 Substância Química de Referência (SQR).....	62
4.2.2. Ponto de fusão pelo método capilar e faixa de fusão .....	62
4.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) .....	63
4.2.4 Espectrofotometria na região do infravermelho e do ultravioleta .....	63
4.2.5 Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN 1H) .....	63
4.2.6 Espectrometria de massas.....	64
4.3 Resultados e discussão .....	64
4.3.1 Ponto de fusão.....	64
4.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial .....	65
4.3.3 Espectrofotometria na região do infravermelho e do ultravioleta .....	66
4.3.4 Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN 1H) .....	68
4.3.5 Espectrometria de massas.....	69
4.4 Conclusão.....	70

<b>5. CAPÍTULO II: MÉTODO ANALÍTICO INDICATIVO DE ESTABILIDADE POR CLAE, ESTUDO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO OXIDATIVA DE OMARIGLIPTINA .....</b>	<b>73</b>
5.1 Introdução.....	73
5.2 STABILITY-INDICATING HPLC METHOD FOR ESTIMATION OF OMARIGLIPTIN IN TABLETS – OXIDATIVE AND PHOTOLYTIC KINETICS AND DEGRADATION PRODUCTS FORMED UNDER OXIDATIVE CONDITIONS.....	75
<b>6. CAPÍTULO III: ENSAIO DE DISSOLUÇÃO PARA COMPRIMIDOS DE OMARIGLIPTINA.....</b>	<b>99</b>
6.1 Introdução.....	99
6.2. NEW KNOWLEDGE FOR OMARIGLIPTIN TABLETS: DISSOLUTION ASSAY – BEHAVIOR IN DIFFERENT MEDIA AND BIOPHARMACEUTICAL CLASSIFICATION .....	101
<b>7. CAPÍTULO IV: DESENVOLVIMENTO E COMPARAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE OMARIGLIPTINA EM COMPRIMIDOS ....</b>	<b>117</b>
7.1 Introdução.....	117
7.2 ECO-FRIENDLY FIRST-DERIVATIVE UV SPECTROSCOPY METHOD FOR QUANTIFICATION OF OMARIGLIPTIN IN TABLETS: A COMPARATIVE STUDY WITH HPLC METHOD.....	119
<b>8. DISCUSSÃO GERAL.....</b>	<b>135</b>
<b>9. CONCLUSÕES .....</b>	<b>141</b>
<b>10. REFERÊNCIAS.....</b>	<b>145</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análise da variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância sanitária
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DMT1	Diabetes mellitus tipo 1
DMT2	Diabetes mellitus tipo 2
DPP-4	Dipeptidyl-peptidase 4
DPR	Desvio padrão relativo
ESI	<i>Electrospray ionization</i>
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
GIP	<i>Glucose-dependent insulintropic polypeptide</i>
GLP-1	<i>Glukagon like-peptide 1</i>
HPLC	<i>High performance liquid chromatography</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i>
IV	Infravermelho
LC-MS	<i>Liquid Chromatography-mass spectrometry</i>
LOD	<i>Limit of detection</i>
LOQ	<i>Limit of quantification</i>
MS	<i>Mass spectrometry</i>
MODY	<i>Maturity Onset Diabetes of the Young</i>
<i>m/z</i>	Relação massa/carga
RMN	Ressonância magnética nuclear
SBD	Sociedade Brasileira de Diabetes
SQR	Substância química de referência
OMG	Omarigliptina
OMS	Organização Mundial da Saúde
UV	Ultravioleta







## 1. INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus é uma doença metabólica que afeta milhares de pessoas mundialmente. Segundo dados referentes a 2014 publicados pela Organização Mundial da Saúde em 2016, são acometidas pela doença mais de 422 milhões de pessoas no mundo causando a morte de mais de 1,5 milhões de pessoas em 2012 por aumento de riscos associados a eventos cardiovasculares e também a outras doenças. Dados de prevalência brasileira indicam que mais de 16 milhões de brasileiros adultos (8,1%) são acometidos pelo diabetes, causando a morte de 72 mil pessoas por ano (WHO, 2016).

É uma doença crônica na qual o organismo não produz ou não consegue utilizar adequadamente o hormônio capaz de regular a quantidade de glicose no sangue. Este hormônio, a insulina, é responsável por utilizar a glicose obtida por meio dos alimentos como fonte de energia para o corpo. O diabetes causa a condição chamada de hiperglicemia, ou seja, excesso de glicose no sangue, o que pode resultar em danos aos órgãos, vasos sanguíneos e nervos (MARASCHIN et al., 2010).

As terapias atuais são baseadas na aplicação de insulina quando o corpo não produz ou quando a capacidade de produção encontra-se diminuída e em terapia medicamentosa quando o organismo não consegue usar adequadamente a insulina que produz (SBD, 2019).

Entre os medicamentos aprovados para uso no diabetes do tipo 2, destaca-se a classe das gliptinas reguladoras que atuam através da inibição da enzima dipeptidil-peptidase 4 (DPP-4). Com a inibição dessa enzima, os hormônios denominados incretinas podem agir por mais tempo. As incretinas são produzidas pelas células endócrinas localizadas no trato gastrointestinal e liberadas quando os nutrientes chegam no intestino, logo que são liberadas estimulam a secreção de insulina e têm como principais hormônios o GIP (do inglês, Gastric Inhibitory Polypeptide) e o GLP-1 (do inglês, Glucagon-like peptide-1) (CHACRA, 2006; BAGGIO & DRUCKER, 2007).

A OMG é um fármaco que faz parte da classe DPP-4 e entrou no mercado no ano de 2015. É comercializada apenas no Japão sob a forma de comprimidos contendo 12,5 ou 25mg, com o nome de Marizev® e produzido pela empresa Merck. É administrado apenas uma vez por semana, o que facilita a adesão ao tratamento e

contribui para melhora do controle glicêmico quando em monoterapia ou em combinação com outros agentes hipoglicêmicos (HOME et al., 2018).

Esta substância é considerada um inibidor potente, seletivo, reversível e competitivo da enzima DPP-4 e quando comparada à primeira gliptina da classe (sitagliptina) possui sua potência aumentada em 10 vezes (BIFTU et al., 2014). É capaz de reduzir a concentração de açúcar no sangue, especialmente após as refeições, mas também entre as refeições; além disso, promove o aumento de secreção de insulina pelo organismo e modera a produção de açúcar pelo fígado após as refeições. Uma das grandes vantagens de utilização deste fármaco é que não diminui a concentração de açúcar a um nível perigoso, ao ponto de causar hipoglicemia, uma vez que não tem ação quando o nível de açúcar no sangue está baixo (BIFTU et al., 2014; LI et al., 2017).

Com o desenvolvimento e comercialização de novas substâncias no mercado, destaca-se a importância do monitoramento da qualidade das mesmas, sendo o controle de qualidade o setor fundamental para atuar no desenvolvimento de métodos de análise que auxiliam na garantia da qualidade do produto a ser comercializado, detectando também possíveis interferências como produtos de degradação, que, quando presentes, podem influenciar na eficácia do tratamento.

Fatores ambientais podem ser responsáveis pela formação de produtos de degradação diminuindo a pureza do fármaco e ocasionando diminuição da eficiência da terapia medicamentosa (NAGPAL et al., 2011). Com isso a avaliação da estabilidade de produtos farmacêuticos na presença de alta temperatura, umidade e luz, e também de outros relacionados ao próprio produto como as propriedades físicas e químicas das substâncias ativas e dos excipientes farmacêuticos, forma farmacêutica e sua composição, processos de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagem, são de suma importância (ANVISA, 2005).

Além disso, inclusão de análises por metodologia atual pode acrescentar vantagens em relação ao uso de solventes e o tempo de análise. Ocorre também a necessidade de desenvolver ensaios de dissolução que possam prever de forma mais eficaz o comportamento *in vivo* das formas farmacêuticas o que pode implicar em redução de custos e de trabalho necessários ao desenvolvimento de uma forma farmacêutica e também o número e tamanho dos estudos clínicos requeridos e ao controle de qualidade mais confiável (ROCHA & GALENDE, 2014).

A OMG é um medicamento novo e, até a publicação do artigo desenvolvido nesta tese, existiam trabalhos descrevendo a determinação quantitativa da mesma em fluidos biológicos e apenas uma metodologia analítica para análise quantitativa na forma farmacêutica descrita em ensaio espectrofluorimétrico (AYOUB et al., 2017). Um método indicativo de estabilidade por CLAE para quantificação de OMG na forma farmacêutica foi desenvolvido e validado pela primeira vez neste trabalho e publicado na revista *Microchemical Journal*.

A OMG não possui monografia em nenhum compêndio oficial, o que justifica o desenvolvimento de diferentes métodos de análise confiáveis. Com isso, método de quantificação como UV derivada com uma abordagem mais sustentável em laboratórios também são de suma importância. Em adição, a realização de um estudo de dissolução auxilia no entendimento do comportamento do medicamento no organismo. Portanto, este trabalho visa grande contribuição no desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação de OMG na sua forma farmacêutica.







## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Desenvolver e validar metodologia analítica para a caracterização e determinação quantitativa de omarigliptina em comprimidos, desenvolver um ensaio de dissolução e conduzir estudos de estabilidade para posterior elucidação do(s) produto(s) de degradação majoritário(s).

### 2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar a substância química de referência (SQR) de omarigliptina através da determinação do ponto de fusão, calorimetria exploratória diferencial; espectroscopia de absorção na região do infravermelho e do ultravioleta, espectrometria de massas (EM) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ );
- Desenvolver e validar um método indicativo de estabilidade por CLAE para quantificação de OMG na sua forma farmacêutica, além disso:
  - Realizar estudo de degradação forçada e avaliar a cinética de degradação;
  - Identificar o(s) produto(s) de degradação majoritário(s) através de técnicas espectrométricas e cromatográficas, propondo as possíveis estruturas moleculares;
- Desenvolver um estudo de dissolução dos comprimidos de omarigliptina com validação do método proposto.
- Desenvolver e validar um método com menor impacto ambiental para a quantificação de omarigliptina em comprimidos através da análise por UV derivada e compará-lo com o método CLAE por meio de análise estatística (teste t de *Student*).







### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 *Diabetes Mellitus*

Para manutenção do organismo funcional é imprescindível a regulação dos níveis de glicose no sangue e isso só é possível graças à ação de inúmeros neuropeptídios e hormônios liberados por diversos órgãos, entre eles, o pâncreas. As suas funções dependem do funcionamento da parte exócrina e endócrina. O pâncreas exócrino é responsável pela liberação do suco pancreático que contém enzimas (amílase, lípase) importantes no processo da digestão. Já o pâncreas endócrino produz hormônios que são liberados diretamente na corrente sanguínea (RÖDER et al., 2016).

O sistema endócrino do pâncreas compreende cinco tipos de células diferentes: células  $\alpha$  (15-20%) responsáveis pela produção de glucagon, células  $\beta$  (65-80%), responsáveis pela produção de insulina e peptídeo-C, células  $\gamma$  (3-5%) que são responsáveis pela produção do polipeptídeo pancreático, células  $\delta$  (3-10%) responsáveis pela produção de somatostatina e células  $\epsilon$  (<1%) responsáveis pela produção de grelina (BRISSOVA et al., 2005). Cada hormônio desempenha funções distintas. A insulina reduz os níveis de glicose sanguíneos, enquanto que o glucagon origina a ação contrária. A somatostatina inibe ambos e o peptídeo pancreático regula a atividade secretora, seja ela endócrina ou exócrina. Desta forma, todas elas intervêm no processo de regulação da homeostasia da glicose. Nas células  $\beta$ , o principal estímulo para a liberação de insulina são os níveis elevados de glicose no sangue após uma refeição (GOKE, 2008; HAUGE-EVANS et al., 2009).

O diabetes mellitus é caracterizado como uma síndrome de etiologia múltipla que pode decorrer da ineficiência do efeito da insulina ou da sua falta, ou ambos mecanismos com envolvimento de processos patogênicos específicos como destruição das células beta do pâncreas, resistência à ação ou distúrbios de secreção da insulina, entre outros. Essas condições geram o estado denominado de hiperglicemia, com alteração do metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas e associação a longo prazo de diversas complicações, disfunções e insuficiência de vários órgãos como rins, nervos, cérebro, coração e vasos sanguíneos (MS, 2006; SBD, 2019).

Alguns sintomas clássicos podem passar despercebidos como perda inexplicável de peso, polidipsia e poliúria, além disso, a hiperglicemia de grau elevado poderá causar alterações funcionais ou patológicas por um longo período antes que o diagnóstico seja estabelecido, uma vez que existe um estágio situado entre a normalidade da glicose à faixa diabética (NEWTON et al., 2004).

O diabetes mellitus é um importante problema de saúde pública uma vez que existe uma elevada carga de morbimortalidade associada e um alto custo do tratamento e de suas complicações. Se as tendências atuais persistirem, o número de pessoas com diabetes foi projetado para ser superior a 628,6 milhões em 2045 (SBD, 2019). O aumento da prevalência do diabetes está associado a diversos fatores, como rápida urbanização, transição epidemiológica, transição nutricional, maior frequência de estilo de vida sedentário, maior frequência de excesso de peso, crescimento e envelhecimento populacional e, também, à maior sobrevivência dos indivíduos com diabetes (MS, 2006; SBD, 2019).

Para obter sucesso no controle do diabetes, é necessário estabelecer e desenvolver novas e mais fortes parcerias entre órgãos governamentais e sociedade civil, para uma maior corresponsabilidade em ações orientadas para prevenção, detecção e controle do diabetes. Essas novas estratégias devem promover um estilo de vida saudável e mudanças de hábitos em relação ao consumo de certos alimentos e refrigerantes, bem como estimular a atividade física (SBD, 2019).

### 3.1.1 Tipos de diabetes

Com a necessidade de uma nova classificação para o diabetes devido a muitos diagnósticos não se enquadrarem em nenhuma categoria até então existente e também com avanços recentes no conhecimento das vias fisiopatológicas e tecnologias emergentes para examinar a patologia e os tratamentos que atuam em vias específicas, a OMS publicou recentemente um novo sistema de classificação para o diabetes (Quadro 3.1) (WHO, 2019).

**Quadro 3.1** Classificações do Diabetes Mellitus adotada pela OMS em 2019

<b>Tipos de diabetes</b>	<b>Implicações</b>
Diabetes Tipo 1 (DMT1)	Deficiência na produção de insulina devido à destruição de células beta do pâncreas (processo autoimune).
Diabetes Tipo 2 (DMT2)	Uso ineficiente da insulina pelo organismo.
Hiperglicemia primeiramente detectada durante a gravidez: 1) Diabetes mellitus na gravidez 2) Diabetes Mellitus Gestacional	1) Diabetes Tipo 1 ou Tipo 2 primeiramente diagnosticado durante a gravidez. 2) Hiperglicemia abaixo dos limites de diagnóstico para diabetes na gravidez.
Formas híbridas do diabetes: 1) Diabetes imunomediada de evolução lenta 2) DMT2 com tendência à cetose	1) Início lento de DMT1 (presença de anticorpos). 2) Presença de cetose e deficiência grave de insulina inicial, porém com retorno da produção de insulina.
Diabetes Monogênica associada à defeitos das células beta	Resultante de mutações genéticas. As formas mais comuns são diabetes do adulto iniciada na juventude (MODY), diabetes neonatal permanente, diabetes neonatal transitória.
Diabetes Monogênica associada à defeitos da ação da insulina	Leprechaunismo e a síndrome de Rabson-Mendenhall são duas síndromes pediátricas que apresentam mutações no gene do receptor de insulina com extrema resistência à insulina.
Doenças do pâncreas exócrino	Inclui: pancreatite, trauma, infecção, câncer pancreático e pancreatectomia.
Diabetes induzido por medicamentos ou produtos químicos	Algumas substâncias podem prejudicar a secreção ou a ação da insulina como: glicocorticóides, tiazidas, ácido nicotínico, agonistas alfa e beta-adrenérgicos, interferon-alfa, entre outros.
Diabetes relacionado à infecções	Vírus específicos associados à destruição de células beta e envolvidos na indução ou no desencadeamento do DMT1: rubéola, citomegalovírus, adenovírus, rotavírus, enterovírus, entre outros.
Formas específicas incomuns de diabetes imunomediada	Presença de anticorpos insulínicos; “Síndrome da pessoa rígida”; Anticorpos para receptores de insulina.

Outras síndromes genéticas às vezes associadas ao diabetes	Síndromes acompanhada pelo aumento da incidência do diabetes: Síndrome de Down; Ataxia de Friedreich; Doença de Huntington; Síndrome de Klinefelter Síndrome de Laurence-Moon-Biedl; Distrofia miotônica; Porfíria; Síndrome de Prader-Willi; Síndrome de Turner.
Diabetes não classificado	Categoria temporária de um caso ainda não enquadrado em nenhuma classificação.

O novo modelo de classificação considerou a priorização do atendimento clínico, individualização ao paciente, auxílio aos profissionais de saúde na escolha dos tratamentos adequados, e se devem ou não iniciar o tratamento com insulina, principalmente no momento do diagnóstico. Portanto, o modelo adotado instiga a avaliação dos parâmetros clínicos para identificar subtipos de diabetes (WHO, 2019).

### 3.1.2 Diabetes Mellitus tipo 2 (DMT2)

O DMT2 resulta do uso ineficiente da insulina pelo organismo e é o tipo que representa a grande maioria das pessoas com diabetes em todo o mundo, sendo responsável por mais de 90% dos casos quando comparado a outros tipos de diabetes. Os sintomas podem ser semelhantes aos do DMT1, mas são frequentemente menos acentuados e às vezes até ausentes. Como resultado, a doença pode não ser diagnosticada por vários anos, até que as complicações surjam. Durante muitos anos DMT2 foi visto apenas em adultos acometendo indivíduos a partir da quarta década de vida, mas começou a ocorrer em crianças também (SBD, 2019).

O risco de DTM2 é determinado pela interação de fatores genéticos e ambientais. Etnicidade, história familiar de diabetes e diabetes gestacional anterior combinados com idade avançada, excesso de peso e obesidade, dieta pouco saudável, inatividade física e tabagismo podem aumentar o risco (KAHN et al., 2014).

O desenvolvimento e a perpetuação da hiperglicemia ocorrem concomitantemente com hiperglucagonemia, resistência dos tecidos periféricos à ação da insulina, aumento da produção hepática de glicose, disfunção

incretínica, aumento de lipólise e consequente aumento de ácidos graxos livres circulantes, aumento da reabsorção renal de glicose e graus variados de deficiência na síntese e na secreção de insulina pela célula  $\beta$  pancreática. A disfunção das células  $\beta$  é necessária para desenvolver o DMT2. Muitos acometidos pelo DMT2 têm deficiência relativa de insulina e no início da doença os níveis absolutos de insulina aumentam com a resistência à ação da insulina (KAHN et al., 2014).

O diagnóstico da doença é feito por meio de exames laboratoriais. A glicose de jejum é verificada através da coleta de sangue periférico após jejum calórico de no mínimo 8 horas. Glicose após sobrecarga é o exame que, previamente à ingestão de 75 g de glicose dissolvida em água, coleta-se uma amostra de sangue em jejum para determinação da glicemia e após 2 horas da sobrecarga oral coleta-se a próxima amostra. A avaliação da glicemia após sobrecarga, pode ser a única alteração detectável no início do Diabetes Mellitus, refletindo a perda de primeira fase da secreção de insulina.

A hemoglobina glicada (HbA1c) oferece vantagens ao refletir níveis glicêmicos dos últimos 3 a 4 meses e ao sofrer menor variabilidade dia a dia e independe do estado de jejum para sua determinação. A confirmação do diagnóstico de diabetes requer repetição dos exames alterados, idealmente o mesmo exame alterado em segunda amostra de sangue, na ausência de sintomas inequívocos de hiperglicemia. A Tabela 3.1 aponta os critérios laboratoriais para diagnóstico do diabetes adotados pela SBD:

**Tabela 3-1** Critérios laboratoriais para diagnóstico de normoglicemia, pré-diabetes e Diabete Mellitus adotados pela SBD

	Glicose de jejum (mg/dL)	Glicose após sobrecarga de 75 g de glicose (mg/dL)	Glicose ao acaso (mg/dL)	HbA1c (%)
Normoglicemia*	< 100	< 140	-	< 5,7
Pré-diabetes**	≥ 100 e < 126	≥ 140 e <200	-	≥ 5,7 e <6,5
Diabete Mellitus estabelecido***	≥ 126	≥ 200	≥ 200 com sintomas inequívocos de hiperglicemia	≥ 6,5

\* A OMS considera o valor de corte de 110 mg/dL para normalidade da glicose de jejum

\*\* Positividade de qualquer dos parâmetros confirma diagnóstico de pré-diabetes.

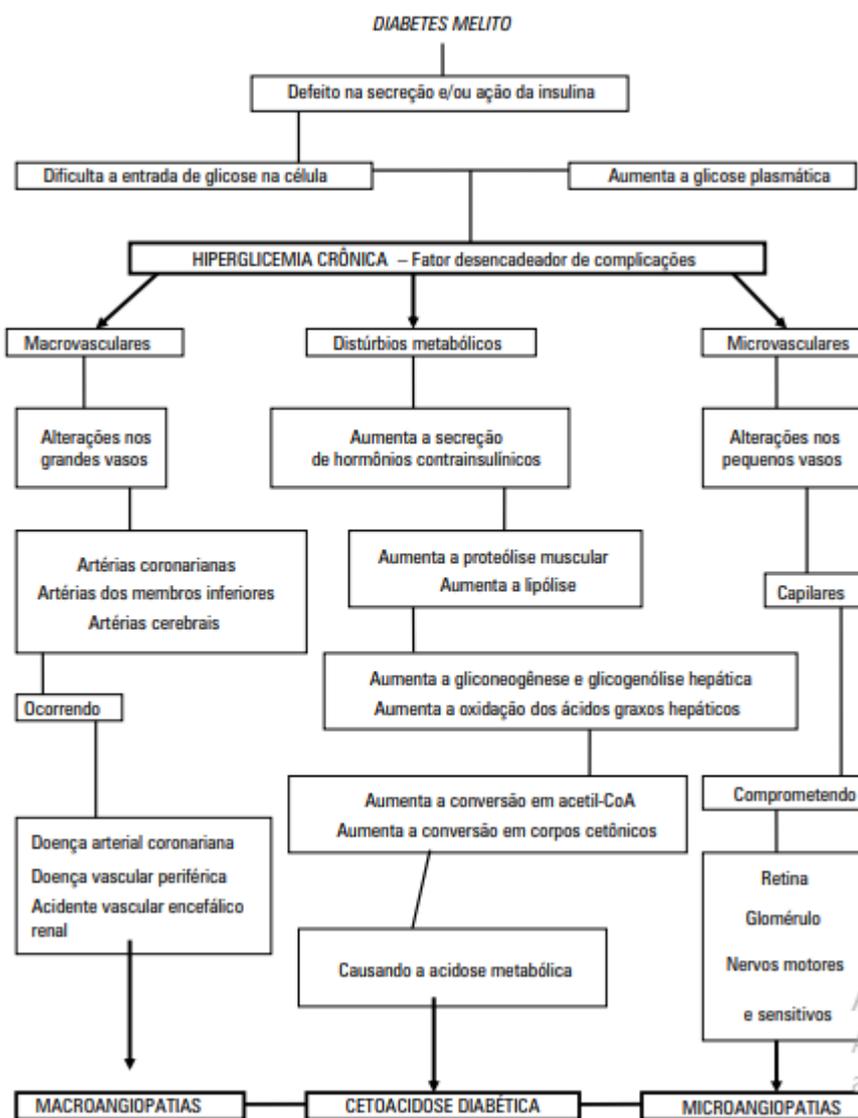
\*\*\* Positividade de qualquer dos parâmetros confirma diagnóstico de Diabetes Mellitus. Método de HbA1c deve ser o padronizado. Na ausência de sintomas de hiperglicemia, é necessário confirmar o diagnóstico pela repetição de testes (Fonte: SBD 2019).

### 3.1.3 Complicações da doença

Quando o diabetes não é bem controlado, complicações instalam-se e ameaçam a saúde colocando em risco a vida. As complicações agudas contribuem significativamente para a mortalidade, os custos e a baixa qualidade de vida. A glicose sanguínea anormalmente elevada pode ter um impacto potencialmente fatal se desencadear condições como a cetoacidose diabética nos tipos 1 e 2 e coma hiperosmolar no tipo 2 (SBD, 2019).

A cetoacidose é uma complicação aguda do diabetes caracterizada por hiperglicemia, acidose metabólica, desidratação e cetose, na vigência de deficiência profunda de insulina. O estado hiperglicêmico é caracterizado por hiperglicemia grave, desidratação e hiperosmolaridade, na ausência de acidose significativa devido a deficiência relativa de insulina (BARONE et al., 2007).

Ao longo do tempo, o diabetes pode danificar o coração, vasos sanguíneos, olhos, rins e nervos, e aumentar o risco de doença cardíaca e derrame. Este dano pode resultar em fluxo sanguíneo reduzido, o que, combinado com dano nervoso (neuropatia), aumenta a chance de úlceras nos pés, infecção e a eventual necessidade de amputação do membro. Retinopatia diabética é uma importante causa de cegueira e ocorre como resultado de danos acumulados de longo prazo para os pequenos vasos sanguíneos na retina. Diabetes está entre as principais causas de insuficiência renal (GUYTON & HALL, 2002). A hipoglicemia pode ocorrer em todos os tipos de diabetes e pode resultar em convulsões ou perda de consciência (NEGRI, 2005). A Figura 3.1 demonstra resumidamente as complicações da doença no corpo:



**Figura 3.1** Complicações da hiperglicemia no corpo (Fonte: FERREIRA et al., 2011)

### 3.1.4 Terapias existentes

O cuidado nutricional em diabetes mellitus é uma das partes mais desafiadoras do tratamento e das estratégias de mudança do estilo de vida. A relevância da terapia nutricional tem sido enfatizada desde a sua descoberta, bem como o seu papel desafiador na prevenção, no gerenciamento da doença e na prevenção do desenvolvimento das complicações decorrentes (WHO, 2003). Além disso, a prática de exercício físico é determinante na prevenção do diabetes tipo 2 e no tratamento de todas as formas de diabetes mellitus. Benefícios adicionais incluem a redução do risco cardiovascular, promoção do bem-estar e controle do peso corporal e da adiposidade (COLBERG et al., 2016).

O tratamento do DMT1 inclui o uso diário de insulina, do contrário, esses indivíduos podem enfrentar consequências fatais (WHO, 2016). No tratamento do DMT2, os hipoglicemiantes orais são indicados juntamente com o controle da dieta e dos exercícios físicos e, dependendo da evolução da doença, a insulina pode ser necessária também (SBD, 2019).

A condução da terapia medicamentosa baseia-se nos seguintes aspectos: mecanismos de resistência à insulina, falência progressiva da célula beta, múltiplos transtornos metabólicos (disglicemia, dislipidemia e inflamação vascular) e repercussões micro e macrovasculares que acompanham a história natural do DMT2. Adicionalmente, é preciso tentar alcançar níveis glicêmicos tão próximos da normalidade quanto viável, minimizando sempre que possível o risco de hipoglicemia. O uso pode ser indicado tanto em monoterapia quanto em terapia combinada (SBD, 2019).

Com finalidade prática, os antidiabéticos podem ser classificados em quatro categorias: os que aumentam a secreção de insulina (hipoglicemiantes), os que não aumentam a secreção de insulina (anti-hiperglicemiantes), os que aumentam a secreção de insulina de maneira dependente da glicose, além de promover a supressão do glucagon e os que promovem a glicosúria (sem relação com a secreção de insulina). O Quadro 3.2 contém os agentes antidiabéticos orais:

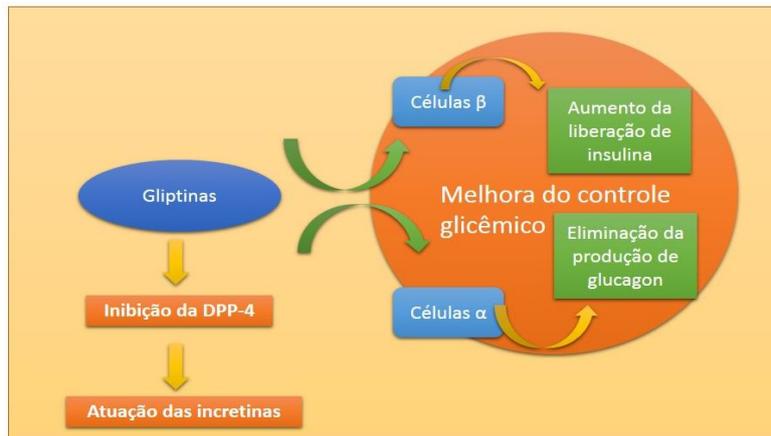
**Quadro 3.2** Agentes antidiabéticos orais (Fonte: SBD, 2019)

<b>Medicamentos</b>	<b>Mecanismo de ação</b>	<b>Classe pertencente</b>
Clorpropamida, Glibenclamida, Glipizida, Gliclazida, Glimepirida	Aumento da secreção de insulina	Sulfonilureia
Repaglinida, Nateglinida,	Aumento da secreção de insulina	Metiglinidas
Metformina	Redução da produção hepática de glicose com menor ação sensibilizadora da ação insulínica	Biguanidas
Acarbose	Retardo da absorção de carboidratos	Inibidores da $\alpha$ -glicosidase

Pioglitazona	Sensibilizadores da insulina	Glitazonas
Sitagliptina, Vildagliptina, Saxagliptina, Linagliptina, Alogliptina, Omarigliptina	Aumento do nível de GLP-1 e da síntese e secreção de insulina. Redução de glucagon	Gliptinas (inibidores da DPP4)
Exenatida, Liraglutida, Lixisenatida, Dulaglutida Semaglutida	Aumento do nível de GLP-1, e da síntese e da secreção de insulina. Redução de glucagon e retardo do esvaziamento gástrico.	Mimético e análogo do GLP-1
Dapagliflozina, Empagliflozina, Canagliflozina	Prevenção da reabsorção de glicose no túbulo proximal renal. Promoção de glicosúria.	Inibidores de receptor SGLT2

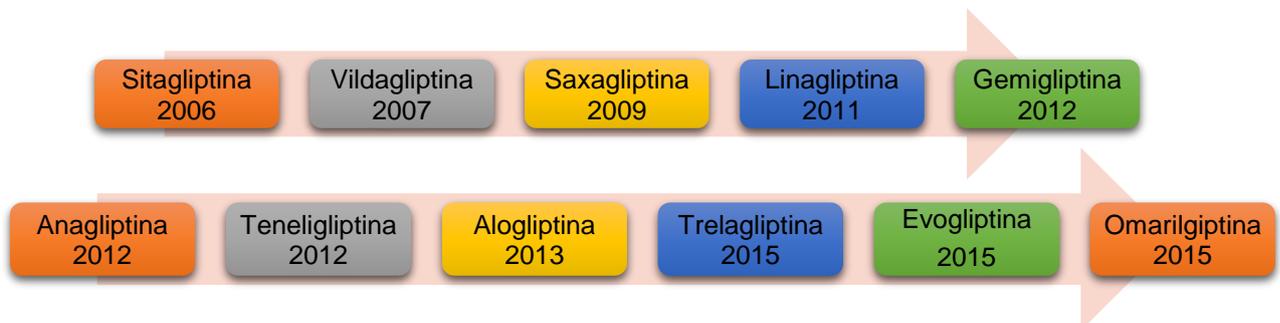
#### 3.1.4.1 Inibidores da enzima dipeptidil-peptidase IV

Os inibidores da DPP-4, conhecidos como gliptinas constituem uma classe de antidiabéticos orais, cujo principal mecanismo de ação é, essencialmente, a estabilização do GLP-1 e GIP endógenos pela inibição da enzima que os degrada, a DPP-4. Como GLP-1 possui sua meia-vida média extremamente curta (1-2min), com o uso de inibidores, os níveis de GLP-1 ativo aumenta em duas a três vezes e melhora a disfunção das células beta e alfa, presente na DM2. Esta inibição aumenta, de forma dependente da glicose, a secreção de insulina e reduz a produção hepática de glicose pela supressão da secreção de glucagon, portanto, o aumento do GLP-1 contribui, assim também, para o controle da glicemia em jejum (DUARTE, 2017). Um esquema do mecanismo de ação das gliptinas pode ser visualizado na Figura 3.2:



**Figura 3.2** Mecanismo de ação das gliptinas (Fonte: autoral)

A utilização das gliptinas em monoterapia pode promover redução da hemoglobina glicada em 0,6 a 0,8% e são neutras em relação a efeitos no peso. Esses medicamentos podem ser usados em associação a metformina, glitazonas, sulfonilureias, inibidores do SGLT2 e insulina. Em um posicionamento, as sociedades europeia e americana de diabetes (European Association for the Study of Diabetes, EASD; American Diabetes Association, ADA) manifestaram-se favoráveis à combinação de gliptinas com insulina basal (ADA, 2019; DAVIES et al., 2018; GARBER et al., 2018). A Figura 3.3 demonstra a evolução das descobertas do inibidores da dipeptidil-peptidase IV.



**Figura 3.3** Evolução das descobertas dos inibidores da dipeptidil-peptidase 4

A sitagliptina, saxagliptina, linagliptina, gemigliptina, tenuigliptina, alogliptina, evogliptina foram desenvolvidos como inibidores da DPP-4 de uso diário. A anagliptina e a vildagliptina com posologia de duas vezes ao dia e a omarigliptina e trelagliptina como uso semanal. Todos os inibidores da DPP-4 são bem tolerados, com baixas taxas de hipoglicemia, a menos que administrados juntamente com o uso da insulina ou aos que induzem a secreção

de insulina e são neutros em relação ao peso, ao contrário das sulfonilureia e da insulina (EVAN et al., 2016).

### 3.2 Omarigliptina

A OMG (Figura 3.4) é um medicamento oral, inibidor competitivo, reversível DPP-4 de ação prolongada, que é administrada uma vez por semana como monoterapia ou associada a outros agentes hipoglicemiantes orais. Foi aprovada para uso no Japão em setembro de 2015 com o nome comercial de Marizev<sup>®</sup> pela empresa Merck & Co. Ind.

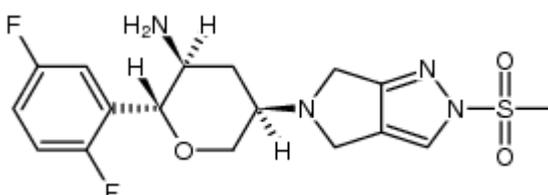
Ainda não está licenciada na Europa e Estados Unidos devido a questões relacionadas ao marketing. Segundo Evans e Bain (2016) o fato reflete a indicação de diferentes terapias prevalente em diferentes regiões. A metformina ainda é utilizada como terapia de primeira escolha, exceto nos casos em que é contraindicada. Ainda, no Reino Unido e em alguns outros países, questões econômicas levam ao uso de inibidores da DPP-4 como agentes de terceira linha (após a indicação de metformina e sulfonilureias ou pioglitazona).

Segundo, Evans e Bain (2016) comentam também que no Japão, a metformina nunca alcançou destaque sobre outras terapias contra o diabetes vistas no Ocidente, sendo que os inibidores DPP-4 fazem parte do mercado de terapias. Isso se deve às vantagens de baixos riscos de hipoglicemia e neutralidade de peso em relação às sulfonilureias. Portanto, para muitos médicos no Japão, os DPP-4 são a terapia de primeira linha para o DMT2 e a opção de OMG uma vez por semana em vez de terapias diárias é mais óbvia, pois gliptinas de uso diário implicam em regimes mais complexos e as semanais ajudam na adesão ao tratamento (EVAN & BAIN, 2016).

Como fonte da descoberta da OMG, uma ciclização conceitual do núcleo molecular da sitagliptina forneceu a justificativa para preparar análogos de tetra-hidropirano (THP) estruturalmente rígidos e levou à identificação do candidato clínico dihidropirrolpirazol. Estudos extensos da relação estrutura-atividade no anel de pirazol identificaram vários grupos moleculares incluindo amida, sulfonamida e análogos de sulfona. Entre todos os análogos de amida e sulfonamida feitos neste estudo, o análogo de metilsulfonamida (MK-3102, omarigliptina) teve a meia-vida mais longa e foi escolhida para o

desenvolvimento clínico. Esses esforços culminaram na descoberta do inibidor potente e seletivo da DPP-4, a omarigliptina (MK-3102) (CHEN et al., 2015).

A OMG geralmente é prescrita em uma dose de 25mg por semana, não sendo necessária redução na dose para dano renal leve/moderado, mas deve ser reduzida para 12,5mg em casos de dano renal grave. Não há restrição nos casos de insuficiência hepática (DEACON & LEBOVITZ, 2016).



**Figura 3.4** Estrutura química da omarigliptina

É rapidamente absorvida após administração, com pico máximo de 0,5-2 horas (MSD, 2015). A OMG inibe a DPP-4 de forma dependente da dose (BIFTU et al., 2014). O perfil farmacocinético é bifásico, com uma fase alfa de 40-50 horas observada governando a maioria do perfil e uma fase beta com uma meia-vida longa de aproximadamente 93-116 horas, que contribuiu mais substancialmente para o perfil farmacocinético em doses baixas (KRISHNA et al., 2016).

Após uma dose única de 25 mg, a inibição quase máxima da DPP-4 é mantida por uma semana inteira com a inibição mínima da DPP-4 excedendo 80% e levando a um aumento de 2 vezes o GLP-1 ativo pós-prandial e uma redução significativa da glicose pós-prandial em comparação com o placebo (ADDY et al. 2016; KRISHNA et al., 2016). A taxa de ligação às proteínas plasmáticas é reduzida dependendo da concentração de 75% a 1 nmol L<sup>-1</sup> para 24% a 1000 nmol L<sup>-1</sup> (BURNES, 2015). São necessárias duas a três semanas de administração de OMG para atingir a concentração plasmática em estado estacionário (BIFTU, 2018).

Indivíduos obesos com ou sem DMT2 demonstraram ter o mesmo perfil farmacocinético (ADDY et al., 2016). Não requer restrições no horário das refeições para ingestão, uma vez que comida, idade, sexo, obesidade e raça não parecem ter um efeito significativo em seu perfil farmacocinético (EVANS & BAIN, 2016). Além disso, não inibe o citocromo p450s, enzimas de fase 2 ou transportadores de fármacos, nem induz CYP1A2, CYP2B6 ou CYP3A4.

Portanto, tem baixo risco de interações medicamentosas (EVANS & BAIN, 2016).

A OMG é eliminada praticamente inalterada na urina (74,4%), tendo sofrido metabolismo mínimo. Uma pequena quantidade (3,4%) também foi recuperada das fezes (XU et al., 2018). Embora vários metabólitos menores tenham sido encontrados na urina, nenhum metabólito ativo foi identificado até o momento. Comparado a outro inibidor da DPP-4 de uso diário, a OMG é mais potente para inibir a enzima DPP-4 (TAN, 2016). Um estudo de farmacocinética e farmacodinâmica em indivíduos saudáveis mostrou que a OMG possui efeito sustentado e clinicamente significativo; melhorou a adesão dos pacientes, otimizando o nível glicêmico controle e reduziu o risco de complicações (KRISHNA et al., 2016).

Este agente anti-hiperglicêmico oral, administrado uma vez por semana, tem o potencial de fornecer aos pacientes com DMT2 uma opção adicional para gerenciar seu controle glicêmico como parte de uma abordagem centrada no paciente.

### 3.2.1 Literatura científica abordando métodos analíticos aplicados a quantificação da omarigliptina

Estudos sobre a farmacocinética e farmacodinâmica de OMG foram conduzidos. O método por espectrometria de massa (LC-MS/MS) foi usado para quantificar a OMG no plasma ou na urina (ADDY et al., 2016; KRISHNA et al., 2016).

Em trabalho publicado por Li e colaboradores (2017), um método rápido e sensível foi desenvolvido com sucesso a um estudo farmacocinético para quantificar a OMG em amostras de plasma de ratos. Foi utilizado um sistema UHPLC (*Ultra-high pressure liquid chromatography*) empregando como fase móvel uma mistura de acetonitrila e ácido fórmico (0,1%). A biodisponibilidade absoluta da OMG calculada foi de aproximadamente 87% (Li et al., 2017).

Um método bioanalítico por HPLC foi desenvolvido para quantificar OMG com detecção UV (240 nm) como uma alternativa para os métodos LC-MS relatados em a literatura. A fase móvel consistiu na eluição isocrática da fase móvel contendo acetonitrila e tampão fosfato (50:50, v/v). A técnica de extração líquido-líquido foi usada para preparações de amostras de plasma. O método foi

validado de acordo com as diretrizes do FDA e aplicado em amostras após administração oral em ratos. Outras aplicações foram atribuídas para OMG matéria-prima usando o mesmo método, incluindo um estudo de degradação acelerada e sua cinética de degradação em meio ácido (ATTALLAH et al., 2019).

Um método espectrofluorimétrico foi desenvolvido para a determinação de OMG com base no seu comportamento de fluorescência. A sua interação com surfactantes e macromoléculas também foi estudada. Os parâmetros de validação foram adequados na faixa de concentração de 0,1 a 2 µg/mL. Além disso um ensaio de dissolução dos comprimidos foi conduzido. O método desenvolvido foi o primeiro método analítico para quantificação de OMG em comprimidos (AYOUB et al., 2018).

### *3.3 Controle de qualidade de medicamentos – validação de métodos analíticos*

A análise de fármacos é fundamental nas diversas fases de desenvolvimento farmacêutico, tais como estudos de formulação, estabilidade e controle de qualidade (SFAIR, 2012) e somente a validação de métodos analíticos, utilizados para avaliar a qualidade dos fármacos, garante que os mesmos atendam às exigências das aplicações analíticas e assegure a confiabilidade dos resultados obtidos (ANVISA, 2017).

Dentro do controle de qualidade, a validação de um método analítico é o processo pelo qual se estabelece, através de estudos laboratoriais, se os parâmetros de desempenho analítico atendem às exigências para a aplicação analítica pretendida. A utilização de métodos analíticos validados é imprescindível para que se possa garantir a segurança, eficácia e qualidade de um medicamento. São várias as metodologias e técnicas analíticas disponíveis, sendo que a escolha baseia-se em fatores relativos à substância a ser analisada, bem como nas características do método a ser empregado (ANVISA, 2017).

No Brasil, a legislação vigente a qual dispõe sobre critérios para validação de métodos analíticos aplicável a insumos farmacêuticos, medicamentos e produtos biológicos em todas as suas fases de produção é a RDC nº 166 de 24 de julho de 2017.

Essa resolução compreende que os seguintes parâmetros devem ser avaliados: especificidade, seletividade, precisão, exatidão, linearidade, limite de detecção e quantificação e robustez (ANVISA, 2017).

A seletividade é um dos primeiros parâmetros a serem avaliados, pois caso o critério de aceitação não tenha sido atendido, há um indicativo de que o método pode não ter sido desenvolvido adequadamente. Este parâmetro é importante para métodos indicativos de estabilidade que indicam que, ao longo do tempo do medicamento, o método permanece seletivo. A seletividade refere-se a qualidade do método de responder a um número limitado de compostos químicos (ICH, 2005; ANVISA, 2017).

A especificidade refere-se a qualidade do método em produzir uma resposta para um analito na presença de outros componentes da matriz. (MCPOLIN, 2009). A falta de interferências em métodos analíticos é de extrema importância para geração de resultados corretos (MCPOLIN, 2009; ANVISA, 2017).

A precisão refere-se à avaliação da proximidade dos resultados obtidos na análise de amostras preparadas individualmente. Deve ser expressa por meio da repetibilidade, da precisão intermediária ou da reprodutibilidade. É demonstrada pela dispersão dos resultados, através do cálculo do desvio padrão relativo. O estudo de exatidão tem o objetivo de verificar a recuperação de um analito em concentrações diferentes dentro de uma matriz, uma vez que esta pode interferir nos resultados. Deve ser obtida por meio do grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro (MCPOLIN, 2009; ANVISA, 2017).

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados em faixa analítica especificada. Esta faixa corresponde ao intervalo entre os pontos de menor e maior concentração do analito em uma amostra, em que estes pontos devem ter níveis aceitáveis de linearidade, exatidão e precisão (ICH, 2005; ANVISA, 2017).

Os limites de detecção e quantificação também devem ser determinados. O limite de detecção indica a menor quantidade do analito capaz de ser detectada, mas não necessariamente quantificada pelo método e o limite de quantificação a menor quantidade de analito capaz de ser quantificado com

adequada precisão e exatidão pelo método proposto. A robustez é avaliada para indicar a capacidade do método em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas (ICH, 2005; ANVISA, 2017).

A validação compreende um processo avaliativo que, se corretamente elaborado, utilizando-se de profissionais habilitados, materiais certificados, e equipamentos devidamente calibrados, comprova que o método é adequado para garantir confiabilidade nas análises, consequentemente confiabilidade do produto analisado. Contudo, a busca pela qualidade e eficácia dos medicamentos passa por uma evolução constante, exigindo das indústrias e dos produtores de uma forma geral, constantes atualizações, resultando na necessidade estudos rotineiros a fim de continuar a garantir a qualidade já demonstrada do produto final (SILVA & SANTOS).

### *3.4 Métodos analíticos de quantificação*

#### 3.4.1 Espectroscopia UV derivada

Espectroscopia é o estudo da interação entre matéria e radiação eletromagnética. A região de comprimentos de onda entre 200-400 nm é conhecida como ultravioleta. A absorção da radiação ultravioleta ou visível excita os elétrons da molécula, dando origem às chamadas transições eletrônicas. Nestas transições, os elétrons de valência são promovidos de seu estado normal (estado fundamental) para estados de mais alta energia (estado excitado). Dependendo da energia necessária para a transição eletrônica, a molécula absorve em um comprimento de onda específico acabado (SIQUEIRA-MOURA et al., 2008).

Quando comparada com as demais técnicas utilizadas para detecção e quantificação de fármacos, a espectroscopia na região do ultravioleta é uma técnica menos onerosa com maior facilidade e rapidez de execução podendo ser perfeitamente adaptada à rotina de análises de matéria-prima e produto acabado (SIQUEIRA-MOURA et al., 2008).

A espectrofotometria derivada permite aplicações além da espectrofotometria no UV clássica. De modo geral, a diferenciação de um espectro de ordem zero para obtenção de espectros de derivada permite a

separação de picos sobrepostos, aumentando a seletividade, sem separação prévia dos compostos. Além disso, torna as bandas largas mais finas, individualizando melhor os constituintes da mistura e eliminando a interferência de produtos indesejáveis, como excipientes e produtos de degradação (PASCHOAL et al., 2003).

Este método permite a utilização de comprimentos de ondas maiores ou menores dependendo do tipo de interferência observada. Com isso, é possível selecionar um comprimento de onda específico para melhores respostas lineares, o que permite a determinação de cada composto individualmente mesmo na presença de outros compostos ou excipientes da formulação (ROJAS & OJEDAS, 2009).

O método está acessível à grande maioria dos laboratórios de análise e pesquisa, é de baixo custo, fácil execução e constitui uma alternativa menos dispendiosa se comparada ao método por cromatografia líquida de alta eficiência (PASCHOAL et al., 2003).

#### 3.4.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

A cromatografia líquida de alta eficiência é uma das técnicas mais empregadas para análise de identificação e quantificação na rotina industrial e de pesquisa, pois é capaz de avaliar todos os parâmetros necessários para validações de técnicas analíticas (MALDANER et al., 2010). Consiste em um método físico-químico de separação de componentes de uma mistura. O processo ocorre quando a fase móvel, que transporta os analitos, passa através de uma fase estacionária. As diferentes interações que ocorrem entre os analitos e as fases, leva a tempos de migração distintos para cada componente da amostra.

As fases estacionárias mais utilizadas em CLAE para separação de compostos orgânicos são com base de sílica com grupos C18 e grupos C8 (PETROVIC et al., 2005).

As fases móveis normalmente são misturas de metanol e água ou acetonitrila e água (ACN:H<sub>2</sub>O) com ajuste da força cromatográfica e seletividade da fase móvel até se obter resolução suficiente para que ocorra a separação de todos os picos cromatográficos no mínimo tempo de análise. A adição de

modificadores, como ácido fórmico, acetato de amônio, amônia, etc., é realizada com o objetivo de favorecer o processo de ionização dos analitos através do ajuste de pH do meio, melhorando suas interações com a fase móvel e a fase estacionária. O controle do pH do meio também pode ser realizado através do uso de fases móveis tamponadas. Normalmente o detector mais utilizado é o ultravioleta para substâncias que absorvem nessa região (PETROVIC et al., 2005; HERNANDEZ et al., 2007).

Além dos parâmetros necessários para validação da metodologia analítica como linearidade, precisão, exatidão, seletividade, especificidade e robustez, averiguação da adequabilidade do sistema (“system suitability”) deve ser conduzida a fim de avaliar a análise cromatográfica e garantir a qualidade dos resultados obtidos. Os principais parâmetros avaliados são: tempo de retenção, fator de retenção ( $k'$ ), resolução, assimetria, número de pratos (RIBANI et al., 2004).

### *3.5 Avaliação da estabilidade*

Estudos de estabilidade são realizados para estabelecer as condições de armazenamento e prazo de validade de medicamentos. Alguns fármacos são suscetíveis à degradação química sob várias condições devido à fragilidade da sua estrutura molecular. Outros sofrem alterações de degradação física, levando a mudanças no seu estado físico. A degradação de medicamentos pode alterar os seus efeitos farmacológicos, resultando em alteração da eficácia terapêutica, bem como em consequências toxicológicas. Uma vez que os produtos farmacêuticos são utilizados com base na sua eficácia e segurança, eles devem ser estáveis e manter a sua qualidade até o momento da utilização ou até a sua data de validade (YOSHIOKA & STELLA, 2002).

Nos estágios iniciais, os estudos de degradação forçada são utilizados para determinar o tipo de produtos de degradação que poderão ser encontrados após um longo período de armazenamento. Para isso, o produto farmacêutico é submetido a condições de degradação térmica, hidrólise ácida e alcalina, oxidativa e fotolítica (ANVISA, 2015a).

A necessidade da realização dos estudos de degradação forçada surge para gerar todos os produtos de degradação que aparecerão no estudo de

estabilidade. Na prática, percebe-se que geralmente aparecem mais produtos na degradação forçada do que no estudo de estabilidade; portanto, o perfil do estudo de degradação forçada é maior que o perfil de degradação “real”. Trata-se de um perfil de degradação “potencial” (ANVISA, 2015b).

Conforme a Figura 3.5, o perfil de degradação “potencial” pode ser diferente do “real” tanto qualitativamente (compostos diferentes) quanto quantitativamente (concentrações diferentes), mas do ponto de vista qualitativo, o perfil “real” está contido no perfil “potencial”. Os perfis de degradação obtidos no estudo de estabilidade acelerada e de longa duração também podem ser qualitativa e quantitativamente diferentes (ANVISA, 2015b).



**Figura 3.5** Relação entre o perfil de degradação "potencial", obtido no estudo de estresse e o perfil de degradação "real", obtido no estudo de estabilidade de longa duração (Fonte: ANVISA, 2015b)

A análise dos produtos gerados nos estudos de degradação forçada pode ser utilizada para o estabelecimento da rota de degradação e o desenvolvimento de validação dos métodos analíticos indicativos de estabilidade. A identificação de um produto de degradação pode ser confirmada com a utilização de técnicas espectrofotométrica de caracterização (espectro de massas, RMN, infravermelho) (ANVISA, 2015b).

O desenvolvimento dos ensaios de estabilidade exige uma pesquisa ampla em torno dos procedimentos utilizados e também um conhecimento teórico das reações de degradação e dos princípios de cinética química, uma vez que as reações de degradação nos medicamentos ocorrem a velocidades definidas e são de natureza química, podendo ser aceleradas através do aumento da temperatura. A velocidade e a ordem dessas reações são definidas

e para classificá-las são necessários estudos de cinética química, que podem ser classificados como ordem zero, primeira ordem ou segunda ordem (LACHMAN et al., 2010).

A ordem de reação pode ser determinada a partir construção do gráfico na plotagem dos resultados das concentrações do fármaco coletadas a cada tempo de exposição das reações, sendo que, quanto maior o valor do coeficiente de determinação linear em comparação a cada ordem for obtido, teremos determinado o modelo cinético que melhor descreve a reação (SINKO, 2008; FLORENCE, 2011).

Quando a velocidade da reação é independente da concentração do reagente, a classificação é ordem zero. Nesse caso, um gráfico de concentração (C) em função do tempo (t) dá origem a uma reta, cuja inclinação corresponde à constante de velocidade da reação (k). Já quando a velocidade de reação depender da concentração de um dos reagentes, a reação seguirá cinética de primeira ordem, obtendo-se uma reta com a representação do logaritmo da concentração (log C) em função do tempo (t). Já a reação de segunda ordem (mais rara) ocorre quando a velocidade de reação depende da concentração de dois reagentes. Para esse tipo de reação, a representação do inverso da concentração (1/C) em função do tempo (t) fornece uma reta (SINKO, 2008; COSTA et al., 2013). As equações matemáticas referentes as ordens de reação estão descritas no Quadro 3.3.

**Quadro 3.3** Ordem de reação e a equação matemática,  $t_{50\%}$  e  $t_{90\%}$  correspondente

Ordem de reação	Equação matemática	Tempo de meia-vida ( $t_{50\%}$ )	$t_{90\%}$
Ordem zero	$C = C_0 - k.t$	$C_0 / 2k$	$(0,1 \times C_0) / k$
Primeira Ordem	$\text{Log } C = \text{log } C_0 - k.t$	$0,693 / k$	$0,16 / k$
Segunda Ordem	$1/C = 1 / C_0 + k.t$	$1 / C_0 \times k$	$1 / (9k \times C_0)$

Onde:  $C_0$ : concentração do reagente no tempo zero; C: concentração após determinado tempo de reação; k: constante da velocidade específica;  $t_{50\%}$ : tempo necessário para que um fármaco degrade metade da sua concentração inicial;  $t_{90\%}$ : tempo necessário para que o fármaco degrade 10% de sua concentração inicial (Fonte: SINKO, 2008).

Em trabalho executado por Attallah et al. (2018) a degradação forçada e a cinética de degradação ácida da OMG em matéria-prima foi avaliada. A concentração de ácido (HCl) utilizada na degradação foi 2 N (1:1) com o intervalo de tempo de coleta entre 5-25min em diferentes temperaturas (60, 70 e 80°C).

Os resultados encontrados foram uma cinética de primeira ordem, com valor de tempo de meia vida ( $t_{50\%}$ ) em 3636.92 min,  $t_{90\%}$  em 552.94 min e constante de reação (k) de  $0.0019 \text{ min}^{-1}$ .

### 3.6 Ensaio de dissolução

Segundo Chorilli et al. (2010) entende-se por dissolução o processo de liberação do insumo farmacêutico ativo de sua forma farmacêutica tornando-o disponível para absorção. Para medicamentos de administração oral, os parâmetros fundamentais que controlam a taxa e a extensão da absorção são a sua solubilidade aquosa e sua permeabilidade intestinal (CHORILLI et al., 2010).

O desenvolvimento adequado do método de dissolução é imprescindível para que este possa ser capaz de indicar semelhança entre o medicamento genérico/similar e o medicamento referência, para prever a biodisponibilidade do produto, processos produtivos, tamanhos de lotes, locais de fabricação e outras alterações pós-registro; para detectar mudanças durante os estudos de estabilidade do medicamento; para avaliar a consistência e reprodutibilidade dentro de um mesmo lote e entre lotes e também isentar as demais dosagens de estudo de bioequivalência (ANVISA, 2018).

Observações visuais do comportamento da dissolução do produto são importantes durante o desenvolvimento do método, pois possibilitam verificar de que forma variações no processo produtivo e na formulação interferem na dissolução do produto acabado. Podem indicar, por exemplo, a desintegração de formas farmacêuticas sólidas, adesão das partículas nos aparatos, desintegração complexa do revestimento de liberação modificada, presença de partículas flutuantes, entre outros (ANVISA, 2018).

A avaliação por meio do perfil de dissolução permite uma análise mais conclusiva do processo de liberação da substância ativa e, conseqüentemente, o estabelecimento das condições e das especificações mais adequadas para o controle do desempenho do produto (CHORILLI, et al. 2010).

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (Figura 3.6) pensado por Amidon e colaboradores (1995), surgiu na década de 90 em necessidade a grande complexidade físico-química relacionada aos fármacos, portanto, organizá-lo em classes foi de grande utilidade, principalmente para fins

regulatórios (AMIDON et al., 1995). Este sistema fornece dados sobre a solubilidade e permeabilidade do fármaco, principalmente no caso de formulações com uma maior probabilidade de apresentar problemas de biodisponibilidade como as formas farmacêuticas sólidas e suspensões (ANVISA, 2011; FDA, 2017).

Classe I	Classe II	Classe III	Classe IV
<ul style="list-style-type: none"> <li>•Alta Solubilidade</li> <li>•Alta Permeabilidade</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Baixa Solubilidade</li> <li>•Alta Permeabilidade</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Alta Solubilidade</li> <li>•Baixa Permeabilidade</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Baixa Solubilidade</li> <li>•Baixa Permeabilidade</li> </ul>

**Figura 3.6** Sistema de Classificação Biofarmacêutica

Um fármaco pode ser considerado altamente solúvel quando a maior dose testada (dosagem máxima descrita em bula), administrada oralmente, em uma formulação de liberação imediata, é completamente solubilizada em um volume de até 250 mL ou menor, em cada uma das soluções tampão utilizadas e, em uma faixa de pH de 1,2 a 6,8 e à temperatura de  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . Para ser considerado altamente permeável, é necessário que 85% ou mais da dose administrada oralmente, como formulação de liberação imediata, seja absorvida (ANVISA, 2011; FDA, 2017).

Na literatura pesquisada não é descrita a classificação biofarmacêutica da OMG. No entanto, com base nos dados de biodisponibilidade (87,31%) (LI et al., 2017) e solubilidade do fármaco, sua classificação biofarmacêutica pode ser sugerida.

O guia de dissolução aplicável a medicamentos genéricos, novos e similares publicado pela ANVISA enuncia que a solubilidade do insumo farmacêutico ativo deve ser determinada em pelo menos três meios diferentes a fim de contemplar a faixa de pH fisiológico. Além disso uma validação do método de dissolução deve ser conduzida a fim de garantir a reprodutibilidade e confiabilidade dos resultados (ANVISA, 2018; ANVISA, 2019). Em trabalho desenvolvido por Ayoub et al. (2017), um ensaio de dissolução dos comprimidos de OMG foi conduzido em meio contendo HCl 0.1 M, porém este experimento foi relatado de forma breve, sem avaliação do perfil de dissolução em diferentes

meios conforme preconiza os guias oficiais e também a validação do método de dissolução não foi conduzida.

Os estudos de dissolução *in vitro* constituem um dos elementos essenciais para avaliar e garantir as propriedades biofarmacotécnicas das formulações. Desta forma, considerando também que a OMG não possui monografia publicada em nenhum compendio, justifica-se a realização de perfis de dissolução com os meios que apresentarem condição *sink* para o controle de qualidade de rotina dos comprimidos, além da condução da validação do método de dissolução.



---

**4. Capítulo I: Caracterização da substância química de referência de  
omarigliptina**

---



## **4. CAPÍTULO I: CARACTERIZAÇÃO DA SUBSTÂNCIA QUÍMICA DE REFERÊNCIA DE OMARIGLIPTINA**

### *4.1. Introdução*

Conhecidas como referências de controle de qualidade nacional pela ANVISA, as substâncias químicas de referências (SQR) são imprescindíveis para avaliar a conformidade de insumos farmacêuticos e medicamentos tanto no desenvolvimento e validação de métodos analíticos em indústrias como em pesquisas acadêmicas. São produtos com uniformidades reconhecidas, destinadas ao uso em ensaio onde uma ou mais de suas propriedades serão comparadas com a substância em exame. Essas substâncias podem ser fármacos, produtos biológicos, extratos e pós vegetais, radiofármacos, entre outros (ANVISA, 2019).

A responsabilidade atual pela distribuição oficial das SQR da Farmacopeia Brasileira (SQR-FB) é do Instituto Nacional de Controle de Qualidade, o que torna o custo mais acessível e com maior agilidade de aquisição e com padrão de qualidade comparável ao padrão internacional, uma vez que até pouco tempo o fornecimento era exclusivo do mercado internacional. Na ausência de uma SQR-FB é permitido o uso de SQR estabelecida por outros compêndios oficiais, não necessitando de caracterização posterior (ANVISA, 2019; FIOCRUZ, 2019).

As substâncias de referência não-compêndiais são aquelas com elevado teor de pureza, porém necessitam ser cuidadosamente caracterizadas. Estas são denominadas pela legislação atual RDC 166/2017 como substâncias químicas caracterizadas (SQC). Mesmo na presença de SQR compêndiais a SQC é aceita para validação de métodos analíticos, desde que seja devidamente caracterizada e o relatório seja anexado juntamente ao documento de validação (ANVISA, 2017).

Segundo a RDC 166/2017, a caracterização de substâncias químicas é um conjunto de ensaios que visa garantir a autenticidade, pureza, teor e potência, devendo incluir dados a partir de técnicas aplicáveis à caracterização de substâncias como: ponto de fusão, calorimetria exploratória diferencial, espectroscopia do infravermelho, entre outras (ANVISA, 2017).

A substância química de referência farmacopeica de OMG não está disponível, por este motivo a SQR foi adquirida em fonte não compendial. Com isso, é importante a aquisição de empresas confiáveis e a caracterização por diferentes técnicas faz-se necessária.

Este capítulo tem por objetivo caracterizar a substância química de referência adquirida. As técnicas utilizadas para análise foram espectrofotometria na região do ultravioleta e na região do infravermelho, espectrometria de massas, calorimetria diferencial exploratória, ressonância magnética nuclear de hidrogênio, ponto de fusão pela técnica do capilar e faixa de fusão por microscópio.

## *4.2 Materiais e métodos*

### 4.2.1 Substância Química de Referência (SQR)

Para a realização dos experimentos foi utilizada a OMG com teor declarado de 98,0 %, identificado pelo lote 11746 e adquirida da empresa *Acchemblock* (Estados Unidos). É denominada de (2R, 3S, 5R) -2- (2,5-difluorofenil) -5- [2- (metilsulfonil) -2,6- di-hidropirrolo [3,4-c] pirazol-5 (4H) -il] -tetra-hidro -2H-pirano-3-amina ou apenas MK-3102 e identificada com CAS 1226781-44-7. Possui fórmula molecular  $C_{17}H_{20}F_2N_4O_3S$  e massa molecular 398,43 g/mol (SCFINDER, 2019).

### 4.2.2. Ponto de fusão pelo método capilar e faixa de fusão

Para a determinação do ponto de fusão pelo método de capilar foi utilizado o equipamento Mettler Toledo, FP90, previamente calibrado. A amostra foi compactada em um tubo capilar (diâmetro de 1mm e 6mm de comprimento) com aquecimento de 5°C/minuto, e a análise realizada em triplicata.

A determinação da faixa de fusão da SQR foi realizada em equipamento tipo *Koffler*, marca Wagner e Muniz. Uma pequena quantidade de SQR foi transferida para uma lâmina de vidro e uma lamínula de vidro foi colocada sobre a substância. O aquecimento foi realizado de maneira gradual e a observação da faixa de fusão foi realizada no microscópio acoplado a uma chapa de aquecimento. As análises foram realizadas no Laboratório de Química

Farmacêutica da Faculdade de Farmácia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

#### 4.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise foi realizada no Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico - Faculdade de Farmácia, UFRGS. Foi empregado o calorímetro exploratório diferencial com fluxo de calor, modelo DSC-60, marca SHIMADZU, com controlador de fluxo FC-60 A, integrador TA 60WS e *software* de controle e análise TA 60 versão 2.0, calibrado com Índio (156,6 °C, energia de transição - 28,45 J/g) e com zinco (419,58 °C, energia de transição - 100,50 J/g).

Pesou-se aproximadamente 1mg da SQR em porta amostra de alumínio, o qual foi selada e submetida à análise em calorímetro exploratório diferencial com razão de aquecimento de 10 °C/min e fluxo de nitrogênio de 50 mL/ min.

#### 4.2.4 Espectrofotometria na região do infravermelho e do ultravioleta

A caracterização por espectrofotometria na região do IV foi realizada no Laboratório Multitécnica pertencente ao Instituto de Química da UFRGS. As análises foram realizadas em espectrofotômetro FT-IR Perkin Elmer, modelo Spectrum BX 640-IR e analisadas no *software* Origin 6.0. A amostra de omarigliptina SQR foi transferida diretamente ao equipamento e submetida à análise. A identificação das bandas características da OMG foi realizada com base na literatura (PAVIA et al., 2010).

As análises por espectrofotometria na região do ultravioleta foram realizadas no Laboratório de Controle Qualidade Farmacêutico pertencente à Faculdade de Farmácia da UFRGS. O espectrofotômetro utilizado para a análise das soluções foi o UV-Vis Shimadzu, modelo 1800, com duplo feixe, equipado com cubetas de quartzo de 1,0 cm de caminho óptico. O *software* Probe versão 2.42 foi utilizado para o tratamento dos dados. O espectro de absorção obtido foi analisado na faixa de 200-400 nm. A solução de OMG utilizada para a análise foi preparada na concentração de 60µg/mL em metanol.

#### 4.2.5 Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN 1H)

A determinação do espectro de RMN  $^1\text{H}$  da SQR foi realizada na Central Analítica do Instituto de Química, UFRGS. Foi empregado o equipamento Bruker Ascend equipado com console Avance III HD, Campo de 9,4 T, frequência de 400 MHz para a análise. Aproximadamente 10 mg de SQR foi transferida para um tubo para RMN com 5mm de diâmetro, utilizando 700 $\mu\text{L}$  metanol deuterado como solvente. As atribuições dos hidrogênios das moléculas foram estabelecidos com base nas tabelas constantes em literatura científica (SILVERSTEIN, 2007; PAVIA et al., 2010).

#### 4.2.6 Espectrometria de massas

A análise por espectroscopia de massas (ESI-MS/MS) foi realizada em um micrOTOF-QIII (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha) equipado com uma interface de ionização por *electrospray*, operando em modo iônico positivo usando uma tensão capilar de 4,5 kV. Os valores dos parâmetros do ESI-Q-TOF utilizados foram: temperatura do gás de secagem em 200 ° C; fluxo de gás de secagem em 4 L min<sup>-1</sup> e pressão de gás de nebulização de 2,0 bar. A detecção foi feita considerando um intervalo de massa de 20-1000 m/z adquirido com uma taxa espectral de 1,00 Hz. O nitrogênio foi usado como gás de secagem e nebulização.

O espectrômetro de massa foi calibrado através de uma solução de formiato de sódio (10mM) em modo positivo, e os dados de massa foram processados usando o software Data Analysis 4.3 (Bruker Daltonics, Bremen, Alemanha). A análise foi realizada na Central Analítica da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

### 4.3 Resultados e discussão

#### 4.3.1 Ponto de fusão

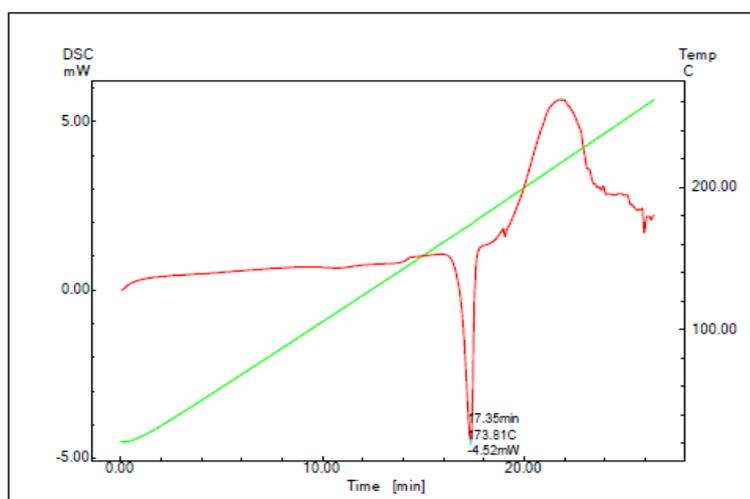
Para a técnica do capilar, o ponto de fusão é determinado no momento que os cristais da amostra coalescem dentro do capilar, originando um fluido transparente que possibilita a passagem de luz através do tubo. Uma amostra padrão com conhecido ponto de fusão foi utilizada previamente como calibração

do equipamento que opera de maneira automática. O valor do ponto de fusão encontrado para OMG foi de  $179 \pm 1^\circ\text{C}$ . A faixa de fusão foi determinada de maneira visual em um termômetro acoplado à chapa de aquecimento. Após aquecimento gradual da amostra, o resultado observado para a SQR foi de  $172 \pm 1^\circ\text{C}$  para temperatura inicial de fusão e  $179 \pm 2^\circ\text{C}$  para temperatura final. Os resultados encontrados para ambas as técnicas foram próximos, confirmando que as mesmas foram empregadas com sucesso na identificação do ponto de fusão da SQR em análise.

#### 4.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial

A calorimetria exploratória diferencial é uma importante técnica de análise térmica capaz de dar informações sobre a pureza e compatibilidade das substâncias, bem como a presença de polimorfismo (OLIVEIRA, et al., 2011).

Na curva de aquecimento obtida para a OMG, a temperatura de fusão apresentou pico em  $173,81^\circ\text{C}$  conforme visualizado na Figura 4.1 Este valor encontra-se dentro da faixa de fusão determinada para a SQR, resultado que mais uma vez corrobora com os valores encontrados nas demais técnicas utilizadas na determinação do ponto de fusão. O evento térmico observado foi uma transição de primeira ordem com a formação de um pico endotérmico, onde há absorção de calor para a fusão do composto (CANEVAROLO, 2004).



**Figura 4.1** Curva de DSC da SQR obtida em rampa de aquecimento de  $10^\circ\text{C}/\text{min}$  e fluxo de nitrogênio de  $50 \text{ mL}/\text{min}$

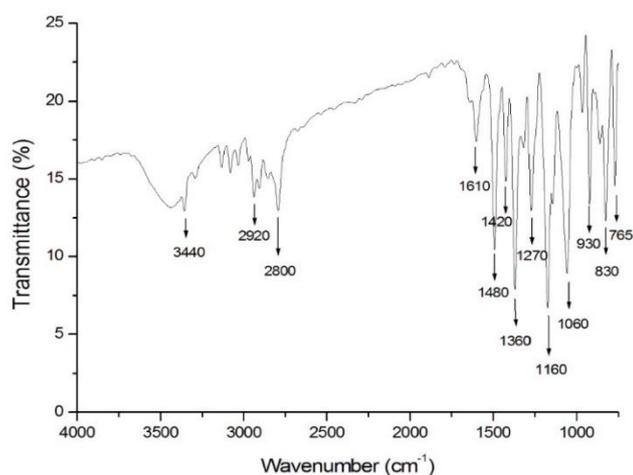
A mesma curva de DSC com pico endotérmico e temperatura de fusão em 172°C foi encontrada por pesquisadores a OMG e relatada em patente (LENGAUER, 2017), já um estudo conduzido por Biftu et al. (2014) mostrou uma fusão endotérmica na temperatura de 176 °C.

#### 4.3.3 Espectrofotometria na região do infravermelho e do ultravioleta

A análise espectrofotométrica na região do infravermelho é umas das técnicas mais empregadas para a identificação de fármacos, pois é capaz de diferenciar estruturas de maneira qualitativa e junto com as demais técnicas como Ressonância Magnética Nuclear, espectroscopia de massas e espectroscopia na região do ultravioleta, constituem um dos principais recursos de elucidação estrutural de substâncias (PAVIA et al., 2010).

O espectro obtido por essa análise gera um grande número de informações relacionadas às principais ligações e grupos funcionais de uma determinada substância e para a análise é necessária uma tabela de correlação entre as absorções de estiramento e deformação, em número de onda (4000 – 400  $\text{cm}^{-1}$ ) e/ou comprimento de onda (2,5 - 25 $\mu\text{m}$ ), e os respectivos grupos funcionais ou ligações químicas correspondentes (PAVIA et al., 2010).

O espectro de absorção na região do infravermelho da SQR e a indicação das principais bandas encontram-se na Figura 4.2



**Figura 4.2** Espectro de infravermelho de omarigliptina

As bandas obtidas experimentalmente através do espectro IV foram comparadas com a escala descrita na literatura (PAVIA et al., 2010) e a maioria

das ligações pertencentes à molécula OMG puderam ser identificadas. A indicação das principais bandas de absorção encontram-se na Tabela 4.1

**Tabela 4-1** Frequência de absorção das principais bandas na região do infravermelho da omarigliptina e suas respectivas atribuições

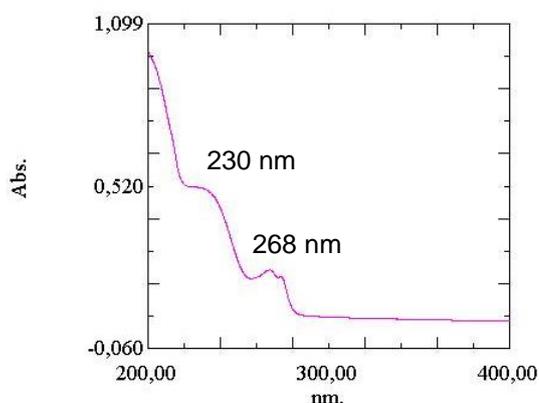
Frequência experimental (cm <sup>-1</sup> )	Faixa na literatura (cm <sup>-1</sup> )	Atribuições
3440	3400-3200	N-H
2920	~3030	C-H
2800	2962 - 2872	C-H Aromático
1610	1640 -1550	C=C
1480	1400 - 1000	C=N
1420	1450-1000	C-F
1360	1350-1000	C-N
1270-1160	1300-1000	C-O-C
1060	~1050	S=O
930-830	860 - 800	Anel Aromático para-substituído- 2H adjacentes
765	800-700	S-C

A faixa de espectro obtida entre 3660 - 2700 cm<sup>-1</sup> exibe fortes bandas que estão associadas a vibrações de deformação axial em átomos de hidrogênio ligados a carbono, oxigênio e nitrogênio (C-H, O-H e N-H) (JAMRÓGIEWICZ, 2012). Dentro desta faixa foram observadas as bandas de 3440 cm<sup>-1</sup> (N-H), 2920 cm<sup>-1</sup> (C-H), 2800 cm<sup>-1</sup> (C-H aromático).

A outra região do gráfico (1610 – 765 cm<sup>-1</sup>), em geral, tem menor intensidade e muitas vezes é difícil de ser identificada (SIMPSON, 2010). Como pode ser visto as frequências atribuídas às principais conexões da molécula OMG foram identificadas, sugerindo sucesso na execução deste importante experimento de identificação molecular. Além disso, bandas com absorções muito próximas às encontradas nesta análise também foram identificadas na análise IV da OMG em estudo realizado por Lengauer (2017).

O estudo da espectroscopia UV envolve a interação entre matéria e radiação eletromagnética. A luz ultravioleta fornece energia causando as transições eletrônicas, e dependendo da energia necessária para essa transição, a molécula pode absorver em determinado comprimento de onda. A luz ultravioleta é a radiação eletromagnética com comprimento de onda entre 200 e 400 nm (BALOGH et al., 2011).

A solução SQR foi preparada a partir de uma solução estoque em metanol contendo 300µg/mL e após diluída a fim de obter a concentração final em 60ug/mL, a mesma foi adicionada à cubeta para análise. O espectro está representado na Figura 4.3.

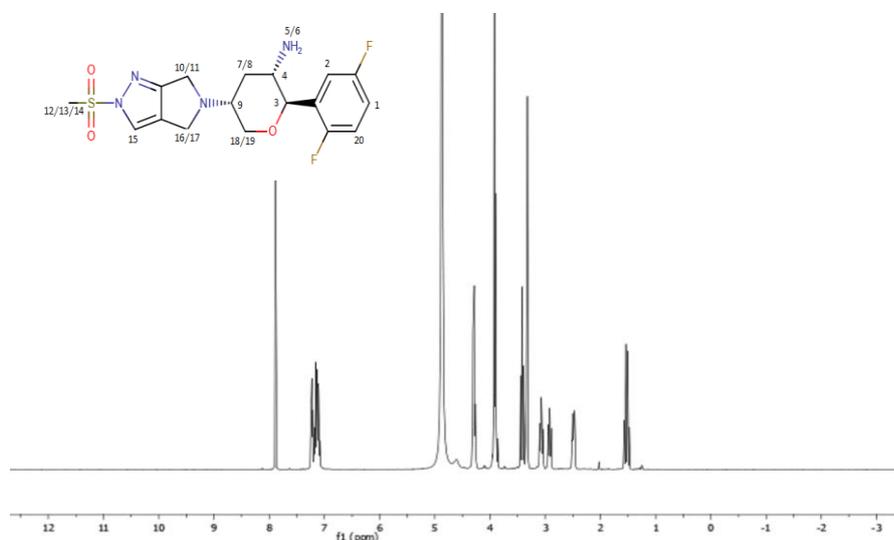


**Figura 4.3** Espectro obtido para a SQR de omarigliptina na região do ultravioleta

Como é possível observar no espectro duas principais regiões máximas de absorção em diferentes comprimentos de onda puderam ser identificadas nesta análise. Ayoub et al. (2018) encontraram um valor de comprimento de onda máximo de 268 nm para OMG em água.

#### 4.3.4 Ressonância Magnética Nuclear de hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H)

O espectro de RMN <sup>1</sup>H de omarigliptina SQR está representado na Figura 4.4. As atribuições do espectro de RMN <sup>1</sup>H de omarigliptina SQR estão apresentados na Tabela 4.2.



**Figura 4.4** Espectro de RMN <sup>1</sup>H da SQR de omarigliptina

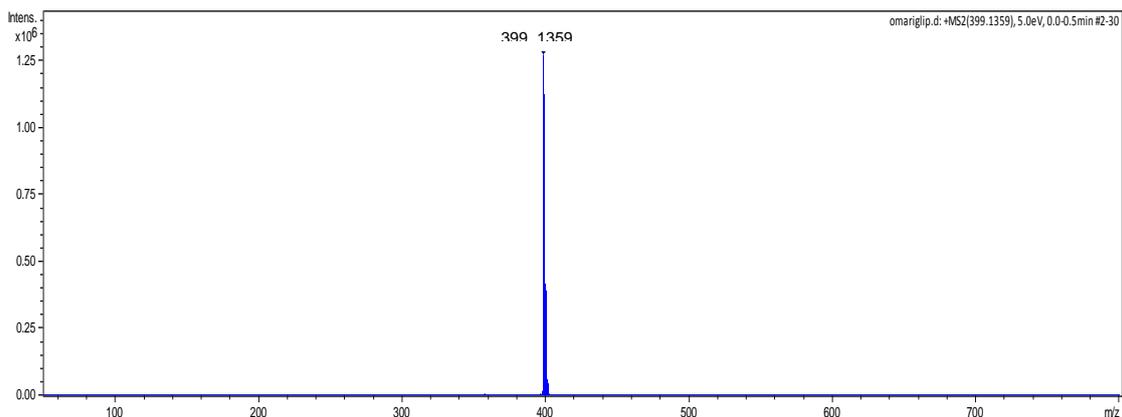
**Tabela 4-2** Atribuição dos sinais teóricos para o espectro de RMN <sup>1</sup>H de OMG

Posição	Deslocamento experimental (ppm)	Deslocamento teórico (ppm)	Número de hidrogênios	Multiplicidade
15	7.84	6.5 – 8.0	1	s
2	7.20	6.5 – 8.0	1	m
1/ 20	7.10	6.5 – 8.0	2	m
5/6	4.61	0.5 – 4.0	2	m
3	4.31	0.5 – 4.0	1	d
10/11	3.92	0.5-4.0	2	m
16/ 17	3.86	0.5 – 4.0	2	m
18	3.50	3.2 – 3.8	1	t
19	3.45	3.2 – 3.8	1	m
4	3.11	2.5 – 3.5	1	m
9	3.03	2.5 – 3.5	1	m
8	2.95	2.2 – 2.9	1	m
7	2.49	2.5 – 3.5	1	m
12/13/14	1.59	1.6 – 2.6	3	q

A interpretação dos sinais obtidos no espectro de RMN <sup>1</sup>H foi realizada comparando com os sinais da literatura dos grupos químicos presentes e estão de acordo para a molécula estudada. A atribuição dos hidrogênios corrobora com a identificação do analito (SILVERSTEIN et al., 2007; PAVIA et al., 2010; BIFTU, et al., 2014).

#### 4.3.5 Espectrometria de massas

Esta técnica analítica é capaz de separar e medir a relação massa/carga ( $m/z$ ) de íons em fase gasosa, produzidos por ionização. O espectrofotômetro de massa é um equipamento capaz de identificar esses íons. O espectro de massa obtido para a SQR da omarigliptina encontra-se na Figura 4.5.



**Figura 4.5** Espectro de massas obtido para a SQR da omargliptina em ionização por eletronebulização positiva

Conforme pode-se observar, o espectro da SQR apresentou um íon molecular de  $m/z$  de 399,1359 g onde a substância analisada recebeu um próton  $H^+$ . O valor de massa encontrado na literatura para a OMG é de aproximadamente 398 g, portanto o resultado encontrado está de acordo com a literatura (SCIFINDER, 2019).

#### 4.4 Conclusão

Foi possível caracterizar a substância química de referência de OMG através da execução de diferentes e importantes técnicas analíticas empregadas, onde cada uma foi capaz de contribuir de forma positiva e complementar para a confirmação da identidade do padrão adquirido. A SQR caracterizada será utilizada nos estudos propostos nessa tese.

---

**5. Capítulo II: Método analítico indicativo de estabilidade por CLAE,  
estudo da cinética de degradação e identificação dos produtos da  
degradação oxidativa de omarigliptina  
ENCARTE DE PUBLICAÇÃO**

---



## **5. CAPÍTULO II: MÉTODO ANALÍTICO INDICATIVO DE ESTABILIDADE POR CLAE, ESTUDO DA CINÉTICA DE DEGRADAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO DOS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO OXIDATIVA DE OMARIGLIPTINA**

### *5.1 Introdução*

Garantir a estabilidade de um medicamento durante o prazo de validade ao qual foi determinado é um dos quesitos essenciais para assegurar a eficácia e segurança de um tratamento. Com isso a estabilidade pode ser definida como a capacidade de uma formulação de manter as suas características terapêuticas, microbiológicas, químicas e físicas por todo o tempo de armazenamento e uso e, assim ter aceitabilidade pelo usuário (ICH; 2003; ANVISA, 2005).

Para que a integridade do produto seja mantida dentro do prazo de validade estabelecido, são preconizados um conjunto de testes de estabilidade que visam compreender o comportamento da substância frente à diferentes condições de estabilidade como luz, temperatura, umidade e fatores ligados ao próprio produto como propriedades químicas e físicas da substância ativa, dos excipientes, do produto farmacêutico, do processo de fabricação e material das embalagens (ANVISA, 2005).

Existem diferentes estudos de estabilidade que tem por objetivo verificar em diferentes escalas de tempo a degradação de um produto. São eles: degradação forçada, estudo de estabilidade acelerada, de longa duração e de acompanhamento. O estudo de degradação forçada tem por objetivo acelerar a degradação e/ou físicas de um produto farmacêutico em condições forçadas de armazenamento (ICH, 2003; ANVISA, 2017).

Este capítulo tem por objetivo realizar um teste de estresse, onde a forma farmacêutica será colocada frente a condições extremas e objetiva demonstrar a especificidade ao desenvolver um método indicativo de estabilidade, sobretudo quando poucas informações estão disponíveis sobre os possíveis produtos de degradação. Este estudo fornece também informações sobre as rotas de degradação e dos produtos formados, que poderiam ser produzidos durante o

armazenamento. Além disso um estudo de cinética de degradação da OMG em meio oxidativo e fotolítico será conduzido também com o objetivo de conhecimento da velocidade de reação.

*5.2 STABILITY-INDICATING HPLC METHOD FOR ESTIMATION OF OMARIGLIPTIN IN TABLETS – OXIDATIVE AND PHOTOLYTIC KINETICS AND DEGRADATION PRODUCTS FORMED UNDER OXIDATIVE CONDITIONS*

**Artigo publicado**

Microchemical Journal, v. 157, p. 105084, 2020.

<https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.105084>



# STABILITY-INDICATING HPLC METHOD FOR ESTIMATION OF OMARIGLIPTIN IN TABLETS – OXIDATIVE AND PHOTOLYTIC KINETICS AND DEGRADATION PRODUCTS FORMED UNDER OXIDATIVE CONDITIONS

Juliana Emanuelli<sup>a\*</sup>, Elfrides Eva Scherman Schapoval<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Ipiranga 2752, Porto Alegre, RS, Brazil

\* Corresponding author.

E-mail address: [julianaemanuelli@gmail.com](mailto:julianaemanuelli@gmail.com)

## ABSTRACT

After the development and validation of a stability indicating analytical method for omarigliptin (OMG) using the HPLC method, a study of oxidative and photolytic degradation kinetics and identification of the main degradation products obtained after stress testing under oxidative conditions of this substance and the degradation route, was proposed. The separations were performed using an Agilent ZORBAX C8 250 x 4.6 mm column and the mobile phase consisted of 10µM phosphate buffer and methanol 45:55 (v / v) with 230nm wavelength detection. The HPLC method was validated according to official guides. It showed to be sensitive, accurate, precise, linear, robust and specific and was successfully used to determine the drug in its pharmaceutical formulation, to investigate the degradation kinetics of omarigliptin in the oxidative and photolytic medium and to get to know the reaction rate. Mass spectrometry was useful to identify the main degradation products and chemical analysis was used as a proposal to estimate the degradation routes of OMG.

**Keywords:** omarigliptin, degradation kinetics, degradation products, HPLC







































---

**6. Capítulo III: Ensaio de dissolução para comprimidos de omarigliptina**  
**ENCARTE DE PUBLICAÇÃO**

---



## 6. CAPÍTULO III: ENSAIO DE DISSOLUÇÃO PARA COMPRIMIDOS DE OMARIGLIPTINA

### 6.1 Introdução

O desenvolvimento de um ensaio de dissolução com critérios de aceitação adequados é uma parte essencial de qualquer estratégia de controle de medicamentos (FLANAGAN et al., 2019). Além disso, é um teste chave de controle de qualidade, vinculado à segurança e eficácia, uma vez que a liberação da forma farmacêutica, a solubilização sob condições fisiológicas e a permeabilidade através de membranas são fatores que podem limitar a absorção de fármacos após a administração oral de formas farmacêuticas (QURESHI et al., 2006). São requisitos fundamentais também para assegurar a qualidade dos diferentes lotes, no desenvolvimento de novos produtos e para garantir a qualidade após mudanças no processo produtivo (SHARGEL et al., 2005).

A ANVISA recomenda que para os casos de desenvolvimento do método de dissolução, que o protocolo contemple as características do insumo farmacêutico ativo, a seleção dos meios e das condições de dissolução, o procedimento de amostragem, os ensaios e os métodos analíticos a serem utilizados, pois nenhum objetivo do ensaio será realizado se não apresentar no mínimo linearidade, exatidão, precisão, robustez e especificidade. Para se obter a condição mais adequada e discriminativa, é indicado também realizar perfis de dissolução comparativos (% fármaco dissolvido x tempo), conforme as mudanças realizadas (ANVISA, 2019).

Existem vários fatores que afetam a velocidade de dissolução e devem ser considerados quando se desenvolve o método. Relacionados à forma farmacêutica pode-se considerar os excipientes presentes, referente ao fármaco, solubilidade nos meios propostos, tamanho de partícula, entre outros e relacionados ao equipamento a agitação e velocidade. Com isso, a seleção das condições do teste devem ser planejadas objetivando a obtenção do máximo poder discriminatório e além de ser capaz de refletir as mudanças quando as formulações são alteradas ou nas características físico-químicas do fármaco (QURESHI et al., 2006; AULTON, 2008).

O presente trabalho objetivou desenvolver um ensaio para dissolução dos comprimidos de OMG demonstrando pela primeira vez o perfil comportamental dessa substância em diferentes meios que abrangem o intervalo da faixa de pH das condições fisiológicas do organismo. Na literatura encontrou-se apenas um trabalho que desenvolveu um estudo da liberação *in vitro* de OMG em meio contendo HCl 0,1N (AYOUB et al., 2018).

*6.2. NEW KNOWLEDGE FOR OMARIGLIPTIN TABLETS: DISSOLUTION  
ASSAY – BEHAVIOR IN DIFFERENT MEDIA AND BIOPHARMACEUTICAL  
CLASSIFICATION*

**Artigo a ser submetido**



## **NEW KNOWLEDGE FOR OMARIGLIPTIN TABLETS: DISSOLUTION ASSAY - BEHAVIOR IN DIFFERENT MEDIA AND BIOPHARMACEUTICAL CLASSIFICATION**

Juliana Emanuelli<sup>a\*</sup>, Nadia Maria Volpato<sup>a</sup>, Elfrides Eva Scherman Schapoval<sup>a</sup>.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Ipiranga 2752, Porto Alegre, RS, Brazil

\* Corresponding author: email address: julianaemanuelli@gmail.com

### **ABSTRACT**

Omarigliptin (OMG) is an active substance for the treatment of type 2 diabetes and it is representing of the dipeptidyl peptidase IV inhibitors class, an important enzyme in the regulation of blood glucose. It was launched on the Japanese market in 2015 as a weekly dose innovation. The article purpose is to report the results obtained after the OMG tablets solubilization in different media, to evaluate the dissolution profile in the chosen media, in addition to validate the proposed dissolution method. After solubility test, the dissolution assay was conducted and a rapid process of tablets disintegration and dissolution was observed in three media containing different pH selected, they were acid hydrochloric 0.01M at pH 3.1, sodium acetate buffer at pH 4.5 and potassium phosphate buffer at pH 6.7. The potassium phosphate buffer medium was chosen to proceed with the dissolution method validation. With the profiles obtained in the three tested media it was possible to conclude that the dissolution is very fast, with 100% of the active substance dissolved in less than 10 for all tested media. In addition, with the evaluation of the dissolution profile obtained in this work and data available in the literature, it was possible to suggest the omarigliptin biopharmaceutical classification. The proposed method was validated and contained all the necessary parameters according to recommended by the official guides.

**Keywords:** omarigliptin, dissolution assay, solubility, biopharmaceutical classification, validation























---

**7. Capítulo IV: Desenvolvimento e comparação de métodos analíticos para  
quantificação de omarigliptina em comprimidos  
ENCARTE DE PUBLICAÇÃO**

---



## **7. CAPÍTULO IV: DESENVOLVIMENTO E COMPARAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS PARA QUANTIFICAÇÃO DE OMARIGLIPTINA EM COMPRIMIDOS**

### *7.1 Introdução*

Cada ano o consumo de medicamentos aumenta mais devido à introdução de novos fármacos no mercado e também ao acesso das pessoas cada vez mais intenso, seja para o tratamento de doenças ou objetivando ter mais qualidade de vida. Com isso cresce a necessidade de desenvolver métodos analíticos eficazes e confiáveis para o controle de qualidade dos medicamentos comercializados, tornando-se imprescindível o desenvolvimento de rotinas de análises que, além de servirem para esse propósito, sejam capazes de ser eficientes e que gerem informações confiáveis (PARISOTTO et al., 2005).

Para que isso aconteça é necessário que a metodologia desenvolvida passe por uma avaliação denominada validação. Essa avaliação proporciona garantia que o método é adequado para a finalidade pretendida, ou seja, capaz de determinar qualitativa e quantitativamente fármacos e outras substâncias. Parâmetros mínimos como linearidade, precisão, exatidão, seletividade, robustez devem estar adequados e dentro das faixas limitantes preconizadas por guias oficiais (BRASIL, 2017).

Diferentes metodologia e técnicas analíticas podem ser utilizadas na identificação e quantificação de fármacos. Com a evolução das técnicas por cromatografia, a cromatografia líquida de alta eficiência tornou-se uma das mais utilizadas, porém outras técnicas podem ser exploradas com confiabilidade dos resultados, principalmente quando já se tem equipamentos disponíveis, ou quando não se tem recursos para adquirir novas tecnologias.

O objetivo deste capítulo é desenvolver, validar e realizar um comparativo entre dois diferentes métodos muito utilizados na análise de fármacos, empregando como objeto de estudo deste trabalho, a substância ativa omarigliptina. Na literatura científica poucos métodos analíticos para quantificação desta substância na forma farmacêutica são descritos, sendo que a espectroscopia no ultravioleta é um método inédito a ser desenvolvida neste

trabalho. Guias oficiais serão utilizados para condução da validação do método obtido.

*7.2 ECO-FRIENDLY FIRST-DERIVATIVE UV SPECTROSCOPY METHOD FOR  
QUANTIFICATION OF OMARIGLIPTIN IN TABLETS: A COMPARATIVE  
STUDY WITH HPLC METHOD*

**Artigo a ser submetido**



# ECO-FRIENDLY FIRST-DERIVATIVE UV SPECTROSCOPY METHOD FOR QUANTIFICATION OF OMARIGLIPTIN IN TABLETS: A COMPARATIVE STUDY WITH HPLC METHOD

Juliana Emanuelli<sup>a\*</sup>, Elfrides Eva Scherman Schapoval<sup>a</sup>

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Ipiranga 2752, Porto Alegre, RS, Brazil

\*Corresponding author: email address: julianaemanuelli@gmail.com

## Abstract

Omarigliptina (OMG) is a dipeptidyl-peptidase 4 inhibitor developed for the type 2 diabetes mellitus management. A few analytical methods capable of quantifying this drug in its pharmaceutical form are described. Therefore, the current study was designed to develop derivative UV spectroscopic for OMG quantification in its pharmaceutical dosage form. The spectroscopic technique was based on the determination of first-order derivative UV spectra at zero crossing using water as a solvent. The wavelength selected was 265nm. The method was validated in accordance to official guideline and compared statistically with previously validated HPLC method by Student's t-test. Derivative UV spectroscopic procedure showed good linearity at range concentration of 20-100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  with a good detection and quantification limits. The proposed method was simple, accurate, precise and robust. Statistical analysis showed no difference between the methods analyzed. Therefore, derivative UV spectroscopy can be used as ecofriendly method for regular quality control of OMG in pharmaceutical dosage form.

**KEYWORDS:** Omarigliptin, Derivative UV spectroscopy, Validation, Quantification, Ecofriendly method



























## 8. DISCUSSÃO GERAL

A caracterização da substância química de referência é uma etapa importante dentro do desenvolvimento de metodologia analítica para quantificação de fármacos, uma vez que confirma a autenticidade e qualidade do padrão adquirido, na indisponibilidade de padrões advindos de compêndios oficiais, dando segurança às análises de comparação com as amostras adquiridas para controle.

As principais técnicas reportadas na resolução de vigência para caracterização de substâncias químicas de referência foram devidamente executadas. Em um conjunto das análises de caracterização realizadas confirma-se que o padrão adquirido cumpre a sua identidade, teor e potência declarados pelo fabricante (ANVISA, 2017).

A ANVISA admite o uso de Substância Química de Referência Caracterizada mediante a apresentação de relatório de caracterização conclusivo para o lote em estudo, incluindo as razões técnicas para escolha dos ensaios utilizados (ANVISA, 2017).

Em busca de conhecimento analítico, o conjunto de métodos desenvolvidos nesse trabalho visa aprimorar e divulgar técnicas de controle de qualidade bastante utilizadas na rotina para análise de medicamentos, com alto potencial de suprimento da adesão à terapia para portadores da diabetes do tipo 2. A OMG, fármaco de estudo desse trabalho, há pouco tempo está no mercado japonês e possui a vantagem em potência (10 vezes mais potente) e em adesão à terapia medicamentosa (esquema posológico semanal) quando comparada à primeira gliptina comercializada, a sitagliptina (BIFTU, 2018).

O método indicativo de estabilidade validado com êxito para quantificação de OMG em comprimidos demonstrou um perfil de degradação potencial para essa substância uma vez que, quando submetida à vários fatores críticos de estresse, foi capaz de separar os produtos de degradação obtidos nos diferentes meios. Uma patente com proposta de formulação para comprimidos contendo OMG relatou a sensibilidade desta molécula frente ao meio ácido, básico e oxidativo (COOPER, 2018). Em relação a cinética de degradação este trabalho demonstra pela primeira vez a cinética de degradação da OMG nos meios oxidativo e fotolítico, observando-se comportamento de ordem zero, ou seja, a

velocidade de reação é independente da concentração da substância reativa e sim de outro fator como solubilidade ou absorção da luz em reação de fotossensibilidade (NUDELMAN,1975, SFAIR et al., 2012).

A cinética da OMG em meio ácido foi estudada por Attallah e colaboradores (2019) e neste meio foi relatada como sendo de primeira ordem, ou seja, a velocidade da reação se torna proporcional à concentração do reagente. Neste trabalho não foi possível obter a cinética em meio ácido, embora o resultado do cromatograma tenha demonstrado a presença de um produto de degradação. Diferentes concentrações de HCl foram testadas. A concentração de 0,5M de HCl mostrou-se a mais adequada, possibilitando a identificação da OMG e seu produto de degradação com resolução entre picos adequada, porém a degradação ocorreu de maneira rápida e apenas no primeiro momento do contato, não sendo possível a obtenção da cinética de degradação. A mesma situação relatada para o estresse em meio ácido aconteceu em meio alcalino, porém neste caso não foi possível visualizar o produto da degradação.

Na pesquisa dos produtos de degradação majoritários, o destaque foi na degradação oxidativa com a presença de dois produtos obtidos e identificados através de um método desenvolvido por LC-MS/MS. A rota de degradação da OMG foi proposta com base em conhecimentos químicos de degradação por agentes oxidativos. O grupo sulfonamida presente na molécula é um grupo suscetível a ataques por agentes oxidativos (CALZA et al., 2004) e o nitrogênio suscetível a formação de n-óxidos (ALSANTE et al., 2001) o que justifica a formação dos dois produtos de degradação obtidos.

No estudo de dissolução para comprimidos de OMG desenvolvido, foi possível escolher três meios mais adequados para condução do teste de dissolução. Os meios escolhidos contemplaram a faixa de pH determinada pela ANVISA para a realização deste estudo. O pH ácido foi obtido utilizando HCl 0,01M, o pH intermediário utilizando o tampão acetato de sódio e pH alcalino utilizando o tampão fosfato de potássio. Foi possível observar que para as três condições testadas o comportamento de desintegração/dissolução foi extremamente rápido com praticamente 100% de fármaco dissolvido em até 5 min para os meios ácido e intermediário e em até 10min para o pH alcalino. Os resultados encontrados estão de acordo com os dados dos parâmetros farmacocinéticos relatados em literatura que demonstram concentração

plasmática máxima para OMG em uma faixa de 0,5 – 2 horas (XU et al., 2018). A biodisponibilidade da OMG foi calculada em 87%, conforme Li et al. (2017). Com esses dados foi possível sugerir a classificação biofarmacêutica da OMG como pertencente a classe I (alta solubilidade e alta permeabilidade), uma vez que a mesma não foi relatada em literatura ainda.

Um estudo de liberação *in vitro* em meio HCL 0,1N demonstrando também a rápida liberação do fármaco neste meio, com 90% de fármaco dissolvido em até 15min, foi desenvolvido, porém a quantificação do fármaco foi realizada por espectrofluorimetria (AYOUB et al., 2018). O desenvolvimento deste ensaio demonstra a dissolução dos comprimidos de OMG e sua solubilidade em meios ainda não relatados na literatura, com análise das amostras feitas por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção no ultravioleta.

O capítulo IV traz um estudo contendo o desenvolvimento de um método analítico por UV derivada para quantificação de OMG em comprimidos objetivando o desenvolvimento de métodos com menores impactos ambientais, utilizando a água como solvente. Além disso, após a validação do método o mesmo foi comparado com o método por CLAE desenvolvido neste trabalho.

O método UV derivada foi escolhido devido a análise clássica mostrar a interferência dos excipientes na análise. O comprimento de onda 265nm foi selecionado através da análise do espectro de primeira derivada por ser o comprimento de onda no qual a amplitude dos excipientes era nula.

Com a avaliação dos parâmetros necessários dentro dos limites indicados pelos guias oficiais, o método foi devidamente validado. Após o mesmo foi comparado estatisticamente por meio do teste t de *Student* com o método CLAE, não apresentando diferença significativa. Portanto, o método UV derivada desenvolvido neste trabalho pode ser utilizado com segurança e confiabilidade na análise de OMG em comprimidos.







## 9. CONCLUSÕES

- A SQR da OMG pode ser caracterizada através das técnicas de espectrofotometria na região do infravermelho e ultravioleta, ressonância magnética de hidrogênio e espectrometria de massa acompanhada das técnicas complementares por DSC, ponto de fusão e faixa de fusão.
- Um método indicativo de estabilidade foi desenvolvido e devidamente validado apresentando linearidade na faixa determinada, especificidade, exatidão, precisão e robustez e mostrou-se apropriado para a determinação quantitativa de OMG na sua forma farmacêutica.
- A cinética de fotodegradação e oxidação da OMG obedeceu a cinética de ordem zero, fato comprovado após comparação dos coeficientes de determinação obtidos para cada modelo aplicado.
- Foi possível identificar através da técnica de espectrometria de massas dois produtos de degradação oxidativos da omarigliptina, bem como propor a rota de degradação dos mesmos.
- Um estudo da dissolução dos comprimidos foi executado em três meios diferentes que contemplam a faixa de pH fisiológico do organismo. Os comprimidos de omarigliptina apresentaram um perfil de dissolução extremamente rápido com 100% do ativo liberado em até 5 minutos para os meios HCl 0,01M e tampão acetato de sódio e em até 10 minutos para o tampão fosfato de potássio.
- Com base nos dados de biodisponibilidade da omarigliptina descritos na literatura e avaliação do perfil de dissolução obtidos nesse estudo, foi possível sugerir a OMG como pertencente a classe I (alta solubilidade e alta permeabilidade) do sistema de classificação biofarmacêutica.

- Foi possível validar o teste de dissolução desenvolvido pela avaliação dos parâmetros de seletividade, linearidade, precisão exatidão e os mesmos ficaram dentro das faixas preconizadas pelos guias oficiais.
- Foi possível desenvolver um método por UV derivada objetivando diminuição dos impactos ambientais por meio do uso de solvente não tóxico. O método foi devidamente validado, cumprindo os requisitos especificados pelos guias oficiais.
- O método por UV derivada pode ser comparado estatisticamente com o método por CLAE não demonstrando ter diferença significativa em relação ao doseamento de omarigliptina nos comprimidos.





## 10. REFERÊNCIAS

ADA. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. Diabetes Care. v. 42 (Suppl 1), p. S90-S102, 2019. <https://doi.org/10.2337/dc19-S009>

ADDY, C.; TATOSIAN, D.; GLASGOW, X. S. et al. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Effects of Multiple-dose Administration of Omarigliptin, a Once-weekly Dipeptidyl Peptidase-4 Inhibitor, in Obese Participants With and Without Type 2 Diabetes Mellitus. Clinical Therapeutics. v. 38, n. 3, p. 516-53, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2015.12.020>

ALSANTE, K.; FRIEDMANN, R. C.; HATAJIK, T. D.; LOHR, L. L. et al. Degradation and impurity analysis for pharmaceutical drug candidates. Handbook of Modern Pharmaceutical, p. 85, 2001.

AMIDON, G. L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. P. A theoretical basis for a biopharmaceutics drug classification: The correlation on in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. Pharmaceutical Research, v. 12, n.3, p. 413- 420, 1995. Disponível em: < file:///C:/Users/Juliana-PC/Downloads/Amidon1995\_Article\_ATheoreticalBasisForABiopharma.pdf> Acesso em: 05 de fevereiro de 2021

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil. Substâncias químicas de referência. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/substancias-quimicas-de-referencia>> Acesso em: 26 de agosto de 2019.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução - RE N° 1, de 29 de julho de 2005. Guia para a realização do estudo de estabilidade. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/res0001\\_29\\_07\\_2005.html](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/res0001_29_07_2005.html)> Acesso em: 21 de novembro de 2019.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 37, de 03 de agosto de 2011. Dispõe sobre o Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 05 de agosto de 2011. Disponível em: Acesso em 05 de dezembro de 2018.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 53, de 07 de dezembro de 2015a. Estabelece parâmetros para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos com substâncias ativas sintéticas e semissintéticas, classificados como novos, genéricos e similares, e dá outras providências. Diário Oficial da União. Brasília, DF, 07 de dezembro de 2015. Disponível em:<[http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3295768/%281%29RDC\\_53\\_2015\\_COMP.pdf/d38f507d-745c-4f6b-a0a6-bd250f2e9892](http://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/3295768/%281%29RDC_53_2015_COMP.pdf/d38f507d-745c-4f6b-a0a6-bd250f2e9892)> Acesso em 11 de fevereiro de 2021.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil. Guia para obtenção do perfil de degradação, e identificação e qualificação de produtos de degradação em medicamentos. GUIA nº 04, versão 1, de 08 de dezembro de 2015b. Disponível em: <<https://storage.googleapis.com/wzukusers/user-21948565/documents/b42ac29efc894ae08ab643c35a2cb2c1/Guia%2004%20Perfil%20e%20produtos%20de%20degrada%C3%A7%C3%A3o%20em%20medicamentos.pdf>> Acesso em: 06 de fevereiro de 2021.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, Brasil. Resolução 166, de 24 de julho de 2017, Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 2017.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Brasil. Guia de dissolução aplicável a medicamentos Genéricos, Novos e Similares. GUIA nº 14, versão 1, de 08 de fevereiro de 2018. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3364628/Proposta+de+Guia+de+Dissolu%C3%A7%C3%A3o+-+06.04.2018.pdf/c15476e5-82aa-402f-aa95-24bf246dccc0?version=1.0>. Acesso em: 06 de novembro de 2019.

ATTALLAH, M. A.; MOWAKA, S.; ELKADY, E. F.; FOUAD, M.; AYOUB, B. Analysis and bio-analysis of omarigliptin, trelagliptin and alogliptin: Applied to biological samples and degradation kinetic study. *Microchemical Journal*, v. 148, p. 253-261, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2019.05.010>

AULTON, M. E. Delineamento de formas farmacêuticas. Artmed, 2008.

AYOUB, B. M.; MOWAKA, S.; ARAFA, M. G. Factorial design optimization of micelle enhanced synchronous spectrofluorimetric assay of Omarigliptin: Applied to content uniformity testing and in vitro drug release. *Luminescence*, v. 33, n. 4, p. 797-805, 2018. <https://doi.org/10.1002/bio.3479>

BAGGIO, L. L.; DRUCKER, D. J. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*, v. 132, n. 6, p. 2131-2157, 2007. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2007.03.054>

BALOGH, T. S.; VELASCO, M. V. R.; PEDRIALI, C. A. et al. Proteção à radiação ultravioleta: recursos disponíveis na atualidade em fotoproteção. *An Bras Dermatol*, v. 86, n. 4, p. 732-42, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0365-05962011000400016>

BARONE, B.; RADACKI, M.; CENCI, M. C. P. et al. Cetoacidose diabética em adultos: atualização de uma complicação antiga. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, v. 51, n. 9, p. 1434-1447, 2007. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302007000900005>

BIFTU, T.; SINHA-ROY, R.; CHEN, P. et al. Omarigliptin (MK-3102): a novel long-acting DPP-4 inhibitor for once-weekly treatment of type 2 diabetes. *J Med Chem*. v.57, p. 3205–3212, 2014. <https://doi.org/10.1021/jm401992e>

BIFTU, T. Omarigliptin (MARIZEV™, MK-3102). *Successful Drug Discovery*, v. 3, p. 291-317, 2018.

BRISSOVA, M.; FOWLER, M. J.; NICHOLSON, W. E.; CHU, A.; HIRSHBERG, B.; HARLAN, D. M. et al. Assessment of human pancreatic islet architecture and composition by laser scanning confocal microscopy. *J Histochem Cytochem.* v. 53, p. 1087–1097, 2005. <https://doi.org/10.1369/jhc.5C6684.2005>

BURNESS, C.B. Omarigliptin: first global approval. *Drugs*, v. 75, n. 16, p. 1947–1952, 2015. <https://doi.org/10.1007/s40265-015-0493-8>

CALZA, P.; MEDANA, C.; PAZZI, M.; BAIOCCHI, C.; PELIZZETTI, E. Photocatalytic transformations of sulphonamides on titanium dioxide. *Applied Catalysis B: Environmental*, v. 53, n. 1, p. 63-69, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2003.09.023>

CANEVAROLO JR, S. V. Técnicas de Caracterização de Polímeros. Editora Artliber-ABPol. p.448, 2004. Disponível em <[https://www.artliber.com.br/amostra/tecnicas\\_de\\_caracterizacao\\_de\\_polimeros.pdf](https://www.artliber.com.br/amostra/tecnicas_de_caracterizacao_de_polimeros.pdf)> Acesso em: 21 de janeiro de 2021

CHACRA, A. R. Efeito fisiológico das incretinas. *Johns Hopkins Adv Stud Med.* v. 6 n.7B, p. 613-617, 2006. Disponível em: <<https://www.biologia.bio.br/curso/1%C2%BA%20per%C3%ADodo%20Faciplac/Artigo%20Efeito%20fisiol%C3%B3gico%20das%20incretinas.pdf>> Acesso em: 21 de janeiro de 2020.

CHEN, P.; FENG, D.; QIAN, X. et al. Structure–activity-relationship of amide and sulfonamide analogs of omarigliptin. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, v. 25, n. 24, p. 5767-5771, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmcl.2015.10.070>

CHORILLI, M.; SOUZA, A. A.; CORRÊA, F.; SALGADO, H. R. N. Estudo de perfil de dissolução dos medicamentos de referência, genérico e similar contendo cefalexina na forma farmacêutica cápsula. *Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada*, v. 31, n.1, 2010.

COLBERG, S. R.; SIGAL, R. J.; YARDLEY, J. E.; RIDDELL, M. C.; DUNSTAN, D. W.; DEMPSEY, P. C.; HORTON, E. S.; CASTORINO, K.; TATE, D. F. Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* v. 39, n. 11, p. 2065- 2079, 2016. <http://dx.doi.org/10.2337/dc16-1728>.

COOPER, V. B.; BRADLEY, K. A.; PYGALL, S. R. et al. Oral pharmaceutical formulation of omarigliptin. *U.S. Patent n. 9937153B2*, 10 abr. 2018. Disponível em:<<https://patentimages.storage.googleapis.com/fc/ac/23/b8b1c1a014d875/US9937153.pdf>> Acesso em: 25 de novembro de 2019.

COSTA, S. P. M.; DA SILVA, K. E. R.; DE MEDEIROS, G. C. R.; ROLIM, L. A.; DE OLIVEIRA, J. F.; DE LIMA, M. C. A. et al. Thermal behavior and compatibility

analysis of the new chemical entity LPSF/FZ4. *Thermochim Act.* V. 562, p. 29–34, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2013.03.003>

DAVIES, M. J.; D'ALESSIO, D. A.; FRADKIN, J.; KERNAN, W. N.; MATHIEU, C.; MINGRONE, G. et al. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2018. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care.* v. 41, n. 12, p. 2669-2701, 2018. <https://doi.org/10.2337/dci18-0033>

DEACON, C. F.; LEOVITZ, H. E. Comparative review of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and sulphonylureas. *Diabetes, Obesity, and Metabolism.* V.18, n.4, p. 333-347, 2016. <https://doi.org/10.1111/dom.12610>

DUARTE, R. Inibidores da DPP-4 (gliptinas)-10 anos depois (2007–2017). *Revista Portuguesa de Diabetes*, v. 12, p. 62-67, 2017. Disponível em: <<http://www.revportdiabetes.com/wp-content/uploads/2017/11/RPD-Vol-12-n%C2%BA-2-Junho-2017-Artigo-de-Opini%C3%A3o-p%C3%A1gs-62-67.pdf>> Acesso em: 15 de Fevereiro de 2021

EVANS, P.; BAIN, S. C. Omarigliptin for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Expert opinion on pharmacotherapy*, v. 17, n. 14, p. 1947-1952, 2016. <https://doi.org/10.1080/14656566.2016.1218472>

FDA. Food and Drug Administration. Guidance for industry: waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutical classification system. Rockville: FDA, 2017. Disponível em: <<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070246.pdf>>. Acesso em 05 de fevereiro de 2021.

FERREIRA, L. T.; SAVIOLLI, I. H.; VALENTI, V. E.; DE ABREU, L. C. Diabetes melito: hiperglicemia crônica e suas complicações. *Arquivos Brasileiros de Ciências da Saúde*, v. 36, n. 3, p. 182-8, 2011. <https://doi.org/10.7322/abcs.v36i3.59>

FIOCRUZ - FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. Ministério da Saúde, Brasil. Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde. Programa de estabelecimento de substância química de referência. Disponível em: [https://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com\\_content&view=article&id=59&Itemid=56](https://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=59&Itemid=56). Acesso em: 22 de agosto de 2019.

FLANAGAN, T.; MANN, J. Dissolution Universal Strategy Tool (DUST): A Tool to Guide Dissolution Method Development Strategy. *Dissolution Technologies*, v. 26, n. 3, p. 6-16, 2019. <dx.doi.org/10.14227/DT260319P6>

GARBER, A. J.; ABRAHAMSON, M. J.; BARZILAY, J. I.; BLONDE, L.; BLOOMGARDEN, Z. T.; BUSH, M. A. et al. Consensus Statement by the American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology on the Comprehensive Type 2 Diabetes Management Algorithm -

2018 Executive Summary. *Endocr Pract.* v. 24, n.1, p. 91-120, 2018. <https://doi.org/10.4158/CS-2017-0153>

GOKE, B. Islet cell function: alpha and beta cells—partners towards normoglycaemia. *Int J Clin Pract Suppl.*, v. 159, p. 2–7, 2008. <https://doi.org/10.1111/j.1742-1241.2007.01686.x>

GUYTON, A. C.; HALL, J. E. Insulina, glucagon e diabetes mellitus. In: \_\_\_\_\_. *Tratado de fisiologia médica*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 827-840, 2002.

HAUGE-EVANS, A. C.; KING, A. J.; CARMIGNAC, D.; RICHARDSON, C. C.; ROBINSON, I. C.; LOW, M. J. et al. Somatostatin secreted by islet delta-cells fulfills multiple roles as a paracrine regulator of islet function. *Diabetes*, v. 58, p. 403–411, 2009. <https://doi.org/10.2337/db08-0792>

HERNANDEZ, F.; SANCHO, J. V.; GUERRERO, M. I. C. Antibiotic residue determination in environmental waters by LC-MS. *Trends Anal. Chem.* v.26, n.6, p. 466-485, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2007.01.012>

HOME, P.; SHANKAR, R. R.; GANTZ, I. et al. A randomized, double-blind trial evaluating the efficacy and safety of monotherapy with the once-weekly dipeptidyl peptidase-4 inhibitor omarigliptin in people with type 2 diabetes. *Diabetes research and clinical practice*, v. 138, p. 253-261, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2017.10.018>

ICH - International Council of Harmonization. Stability testing of New Drug Substances and Products - Q1A (R2), 2003. Disponível em: <[https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-1-r2-stability-testing-new-drug-substances-products-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-1-r2-stability-testing-new-drug-substances-products-step-5_en.pdf)> Acesso em: 25 de novembro de 2019).

ICH Harmonized Tripartite Guideline; Text on Validation of Analytical Procedures, Text and Methodology, Q2 (R1), International Conference on Harmonization; ICH Secretariat, c/o IFPMA: Geneva, Switzerland, p. 1–17, 2005.

JAMRÓGIEWICZ, M. Application of the near-infrared spectroscopy in the pharmaceutical technology. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 66, p. 1-10, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2012.03.009>

KAHN, S. E.; COOPER, M. E.; DEL PRATO, S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet*. v. 383, p. 1068–1083, 2014. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)62154-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)62154-6)

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. Teoria e prática na indústria farmacêutica. 2ª ed. Lisboa: Calouste Gulben Kian, 2010.

LENGAUER, H. Crystalline Form of Omarigliptin. Depositante: Sandoz AG. International Publication Number: WO/2017032705 A1. International Publication date: 2 March 2017.

LI, M-F.; HU, X-X.; MA, A-Q. Ultra-high pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for the determination of omarigliptin in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study in rats. *Biomedical Chromatography*, v. 31, n. 10, e3975, 2017. <https://doi.org/10.1002/bmc.3975>

KRISHNA, R.; ADDY, C.; TOTOSIAN, D. et al. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Omarigliptin, a Once-Weekly Dipeptidyl Peptidase-4 (DPP-4) Inhibitor, After Single and Multiple Doses in Healthy Subjects. *The Journal of Clinical Pharmacology*. v. 56, n. 12, 2016. <https://doi.org/10.1002/jcph.773>

MALDANER, L.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Fases estacionárias modernas para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa. *Quim. Nova*, v. 33, n. 7, P. 1559-1568, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000700024>

MARASCHIN, J. F.; MURUSSI, N.; WITTER, V.; SILVEIRO, S. P. Classificação do diabetes melito. *Arq. Bras. Cardiol.* v. 95, n. 2, 2010. <https://doi.org/10.1590/S0066-782X2010001200025>

MCPOLIN, O. Validation of analytical methods for pharmaceutical analysis. Reino Unido: Mourn Training Services, 2009. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=sUJCAgAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=Validation+of+analytical+methods+for+pharmaceutical+analysis,&ots=l6nkaLKqos&sig=4VRCdFbPmlHrU2GI8L4tOul8vrl#v=onepage&q=Validation%20of%20analytical%20methods%20for%20pharmaceutical%20analysis%2C&f=false>> Acesso em: 01 de março de 2021.

MS - MINISTÉRIO DA SAÚDE. Diabetes Mellitus. Caderno de atenção básica. N. 16; Brasília, DF, 2006. Disponível em: [http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diabetes\\_mellitus.PDF](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/diabetes_mellitus.PDF). Acesso em: 22 de setembro de 2019.

MSD. Omarigliptin (MARIZEV tablets 12.5 mg, 25 mg): Japanese prescribing information. Tokyo: MSD; 2015.

NAGPAL, S.; KARAN; UPADHYAY, A.; BHARDWAJ, T. R.; THAKKAR, A. A Review on Need and Importance of Impurity Profiling. *Current Pharmaceutical Analysis*. v.7, n.1, p.62-70, 2011. <https://doi.org/10.2174/157341211794708749>

NEGRI, G. Diabetes mellitus: Plantas hipoglicemiantes com princípio natural ativo. *Rev. Bras. Cienc. Farm.* v. 41, n. 2, p. 121-142, 2005. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322005000200002>

NEWTON, C. A.; RASKIN, P. Diabetic ketoacidosis in type 1 and type 2 diabetes mellitus: clinical and biochemical differences. Arch Intern Med. V. 164, n. 17, p. 1925-31, 2004. [doi:10.1001/archinte.164.17.1925](https://doi.org/10.1001/archinte.164.17.1925)

OLIVEIRA, M. A. D.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. Química Nova, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000700022>

PARISOTTO, G.; DE SOUZA, J. S.; FERRÃO, M. F.; FURTADO, J. C.; MOLZ, R. F. Análise exploratória aplicada no estudo de medicamentos contendo piroxicam. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, v. 41, n. 4, p. 499-505, out./dez. 2005. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322005000400013>

PASCHOAL, L. R.; FERREIRA, W. A.; PRADO, M. R. D.; VILELA, A. P. O. Aplicação do método da espectrofotometria de derivadas na identificação e doseamento simultâneo de sistemas multicomponentes. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 39, n. 1, p. 105-113, 2003. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-93322003000100011>

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRIZ, G. S.; VYVYAN, J. R. Introdução à Espectroscopia. Cengage Learning, 2010.

PETROVIC, M.; CRUZ, H. M. S.; BARCELÓ, D. Liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of pharmaceutical residues in environmental samples: a review. J. Chromatogr., A, v. 1, p. 1067, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.10.110>

QURESHI, S. A. Developing discriminatory drug dissolution tests and profiles: Some thoughts for consideration on the concept and its interpretation. Dissolution Technol, v. 13, n. 4, p. 18-23, 2006.

RIBANI, M.; BOOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. Química Nova, v. 27, p. 771-780, 2004. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000500017>

ROCHA, T.; GALENDE, S. B. A importância do controle de qualidade na indústria farmacêutica. Rev. UNIN. V. 20, n.2, p. 97-103, 2014. Disponível em: <<http://34.233.57.254/index.php/uningareviews/article/view/1593>>. Acesso em: 27 de Fevereiro de 2021

RÖDER, P. V.; WU, B.; LIU, Y.; HAN, W. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. Experimental & molecular medicine, v. 48, n. 3, p.219, 2016. <https://doi.org/10.1038/emm.2016.6>

ROJAS, F. S.; OJEDA, C. B. Recent development in derivative ultraviolet/visible absorption spectrophotometry: 2004–2008: A review. Analytica Chimica Acta, v. 635, n. 1, p. 22-44, 2009. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.12.039>

SBD. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. Clannad Editora Científica, 2019. Disponível em: <<https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/DIRETRIZES-COMPLETA-2019-2020.pdf>> Acesso em: 02 de fevereiro de 2021.

SCIFINDER. A CAS solution. OMARIGLIPTIN. Available in: <<https://sso.cas.org/as/N84D6/resume/as/authorization.ping>> Assess in: 15 de Agosto de 2019

SFAIR, L. L. Mianserina: desenvolvimento e validação de métodos analíticos e estudo da estabilidade. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.

SFAIR, L. L.; GRAEFF, J. S.; PAIM, C. S.; PASSOS, C. S.; STEPPE, M.; SCHAPOVAL, E. E. S. Photodegradation kinetics, cytotoxicity assay and determination by stability-indicating HPLC method of mianserin hydrochloride, *Pharmazie*, v. 67, p- 490-494, 2012. <https://doi.org/10.1691/ph.2012.1122>.

SHARGEL, Leon; WU-PONG, S.; YU, A. B. C. Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics. Mcgraw-hill, 2005.

SILVA, M. B.; SANTOS, C. W. Avaliação da influência dos parâmetros de validação e testes estatísticos na qualidade da metodologia analítica aplicável à indústria farmacêutica. Disponível em: [https://oswaldocruz.br/revista\\_academica/content/pdf/Edicao26\\_Mayara\\_Bueno\\_da\\_Silva.pdf](https://oswaldocruz.br/revista_academica/content/pdf/Edicao26_Mayara_Bueno_da_Silva.pdf) Acesso em: 01 de março de 2021

SILVERSTEIN, R.M; WEBSTER, F.X. Spectrometric identification of organic compounds. 7ed. Rio de Janeiro: LTC, p.490, 2007.

SIMPSON, M. B. Near infrared spectroscopy for process analytical technology:.

SINKO, P.J. Físico-Farmácia e Ciências Farmacêuticas. 5ªed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

SIQUEIRA-MOURA, M. P.; LIRA, M. C. B.; SANTOS-MAGALHÃES, N. S. Validação de método analítico espectrofotométrico UV para determinação de ácido úsnico em lipossomas. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. V. 44, n. 4, 2008. <https://doi.org/10.1590/S1516-93322008000400008>

TAN, X. Omarigliptin for the treatment of type 2 diabetes. *Endocrine*. v. 54, n. 24, 2016. <https://doi.org/10.1007/s12020-016-1011-9>

XU, S.; TATOSIAN, D.; MCINTOSH, I. et al. Absorption, metabolism and excretion of [14C] omarigliptin, a once-weekly DPP-4 inhibitor, in humans. *Xenobiotica*, v. 48, n. 6, p. 584-591, 2018. <https://doi.org/10.1080/00498254.2017.1346333>

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases: report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation. Technical Report Series 916. Genebra, 2003. Available in: <

[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42665/WHO\\_TRS\\_916.pdf?sequence=1](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42665/WHO_TRS_916.pdf?sequence=1)> Assess in: 05 November 2019

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global report on diabetes: executive summary, 2016. Available in: <  
[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204874/WHO\\_NMH\\_NVI\\_16.3\\_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/204874/WHO_NMH_NVI_16.3_eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y) > Assess in: 15 April 2020

WHO – World Health Organization. Classification of Diabetes Mellitus, 2019. Available in: <  
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325182/9789241515702-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> Assess in: 15 February 2021.

YOSHIOKA, S.; STELLA, V. J. Stability of Drugs and Dosage Forms. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002.