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

DESENVOLVIMENTO DE SOLUÇÃO ORAL CONTENDO LEVOTIROXINA SÓDICA PARA USO HOSPITALAR: VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO E ESTUDO DE ESTABILIDADE

Brendha Lang Camboim

Porto Alegre, Dezembro de 2025.

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

DESENVOLVIMENTO DE SOLUÇÃO ORAL CONTENDO LEVOTIROXINA SÓDICA PARA USO HOSPITALAR: VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO E ESTUDO DE ESTABILIDADE

Dissertação apresentada por Brendha Lang Camboim para obtenção do Grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Orientadora: Prof. Dr. Cássia Virginia Garcia

Porto Alegre, 2025

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 30.10.2025 pela banca examinadora constituída por:

Prof. Dr. Fabio de Souza Barbosa

Cesuca Centro Universitário

Prof. Dr. Martin Steppe

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Renata Vidor Contri

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CIP - Catalogação na Publicação

Camboim, Brendha Lang
DESENVOLVIMENTO DE SOLUÇÃO ORAL CONTENDO LEVOTIROXINA SÓDICA PARA USO HOSPITALAR: VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO E ESTUDO DE ESTABILIDADE / Brendha Lang Camboim. -- 2025.
86 f.
Orientadora: Cássia Virginia Garcia.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2025.

1. Desenvolvimento de Formulação . 2. Estudo de Estabilidade. I. Garcia, Cássia Virginia, orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

AGRADECIMENTOS

O sonho de ser mestre está prestes a se realizar, e incontáveis são os motivos para agradecer.

Agradeço à Deus por guiar meus passos, prover todo o necessário e me abençoar com uma rede de apoio incansável. A certeza de que os planos D'ele são infinitamente maiores que os meus é o que me fortalece.

Aos meus pais, que me proporcionaram o acesso à educação desde muito cedo. Meu maior incentivo sempre foi orgulhá-los, e seus ensinamentos sempre estarão comigo.

À minha avó Alzira que, com a fé de uma vida inteira, me inclui em suas orações todos os dias. É um privilégio testemunhar o seu legado.

Ao meu namorado Gustavo, que incansavelmente se faz presente em todos os momentos. Obrigada por ser colo quando a rotina pesa, tornar a vida mais leve, e por nunca me deixar duvidar do meu potencial.

À minha orientadora Prof. Dr. Cássia Garcia agradeço por ser inspiração em todos os sentidos. Muito além da expertise nas ciências farmacêuticas, sua dedicação em ensinar, paciência e disposição foram fundamentais nesses dois anos.

Ao Prof. Dr. Andreas Mendez pela colaboração e contribuição nas análises de LC-MS.

Aos colegas do LCQFar agradeço pela companhia diária, pelas trocas de experiências e por contribuírem com o meu trabalho.

À Farmácia Semi-Industrial do Hospital de Clínicas de Porto Alegre pela parceria durante o estudo. À UFRGS, ao PPGCF e a todos os docentes com os quais tive o privilégio de aprender. Sempre será motivo de muito orgulho pertencer a um dos melhores programas do país.

À CAPES pelo suporte financeiro.

Por fim, agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para este trabalho.

RESUMO

A base do tratamento do hipotireoidismo é a monoterapia de reposição com levotiroxina sódica (SLT4) e a forma predominante de SLT4 para uso oral é o comprimido, sendo a única forma farmacêutica encontrada no Brasil. Na rotina hospitalar, é necessária a derivação desses comprimidos para pacientes pediátricos e adultos incapazes de deglutir. Porém, esta prática pode comprometer a eficácia terapêutica e a segurança do paciente. Portanto, torna-se urgente desenvolver formulações adaptadas ao uso pediátrico. O objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma solução oral contendo SLT4 para uso hospitalar e pediátrico, e avaliar sua estabilidade físico-química e microbiológica, comparando diferentes embalagens. Primeiramente foi realizada a caracterização do ingrediente farmacêutico ativo (IFA) através de cinco técnicas. A formulação foi então desenvolvida a partir do IFA e testando diferentes combinações de excipientes e escolhendo os mais apropriados para pediátricos. Um método analítico por CLAE foi desenvolvido e validado para o doseamento da SLT4 na formulação. No estudo de estabilidade, a formulação foi armazenada em frasco de vidro âmbar e sachê em diferentes temperaturas por 63 dias, e a cada 7 dias foram analisados pH, teor, aspecto e contagem microbiológica pelo método de contagem em placa. Como resultado, a solução oral de SLT4 30 µg/mL foi desenvolvida com excipientes seguros para pediátricos, com características físico-químicas adequadas, mantendo-se estável por 63 dias em sachê e frasco âmbar a 4 ºC e 25 ºC com aspecto, pH, teor e contagem microbiológica adequados. O método por CLAE é indicativo de estabilidade, e na degradação forçada a SLT4 foi instável à luz UVA, UVC e hidrólise alcalina. Foram encontrados ao todo 6 PD por UPLC-MS nas amostras de degradação forçada e nas amostras de estabilidade 63 dias a 40ºC. É possível concluir que a solução oral de SLT4 desenvolvida é estável por 63 dias a 4 ºC e 25 ºC tanto em sachê quanto em frasco âmbar. Recomenda-se armazenar em geladeira, e representa um avanço para o tratamento do hipotireoidismo na rotina hospitalar, principalmente para pacientes pediátricos.

Palavras-chave: Estabilidade; Formulação; Levotiroxina sódica; Pediátrico; Solução oral.

ABSTRACT

The basis for treating hypothyroidism is replacement monotherapy with levothyroxine sodium (SLT4), and the predominant form of SLT4 for oral use is tablets, which are the only pharmaceutical form found in Brazil. In hospital's routine, it is necessary to extemporaneously prepare liquid SLT4 from tablets to pediatric patients and adults who are unable to swallow. However, this practice may compromise therapeutic efficacy and patient safety. Therefore, it is urgent to develop formulations adapted for pediatric use. The objective of this study was to develop an oral solution containing SLT4 for hospital and pediatric use and to evaluate its physicochemical and microbiological stability, comparing different packaging. First, the active pharmaceutical ingredient (API) was characterized using five techniques. The formulation was then developed from the API by testing different combinations of excipients and choosing the most appropriate ones for pediatric use. An analytical method using HPLC was developed and validated for dosing SLT4 in the formulation. In the stability study, the formulation was stored in amber glass bottles and sachets at different temperatures for 63 days, and every 7 days the pH, content, appearance, and microbiological count were analyzed using plate count method. As a result, the SLT4 30 µg/mL oral solution was developed with excipients safe for pediatric use, with adequate physicochemical characteristics, remaining stable for 63 days in sachets and amber bottles at 4 °C and 25 °C with adequate appearance, pH, content, and microbiological count. The HPLC method is indicative of stability, and in forced degradation, SLT4 was unstable to UVA, UVC light, and alkaline hydrolysis. A total of 6 PDs were found by UPLC-MS in the forced degradation samples and in the 63-day stability samples at 40°C. It can be concluded that the developed SLT4 oral solution is stable for 63 days at 4 °C and 25 °C in both sachets and amber bottles. It is recommended to store it in a refrigerator, and it represents an advance in the treatment of hypothyroidism in hospital routine, especially for pediatric patients.

Keyword: Stability; Formulation; Levothyroxine sodium; Pediatrics; Oral solution.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Regulação fisiológica dos hormônios tireoidianos 18
Figura 2 - Estrutura Química da Levotiroxina Sódica 20
Figura 3 - Espectro gerado por FTIR para o IFA de SLT4 38
Figura 4 - Espectro gerado por MS para o IFA de SLT4 39
Figura 5 - Espectros gerados por UV para o IFA de SLT4 e o PT4 sobrepostos 40
Figura 6 - Espectro de ^{1}H obtido por RMN para o IFA de SLT4 41
Figura 7 - Espectro de ^{13}C obtido por RMN para o IFA de SLT4 42
Figura 8 - Cromatograma por CLAE para o IFA de SLT4 e para o PT4. 43

LISTA DE ABREVIATURAS

BOPP - Polipropileno bi orientado

CLAE - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

EM - Espectrometria de massas

EE - Estudo de estabilidade

FB - Farmacopeia Brasileira

FM - Fase móvel

HC - Hipotireoidismo congênito

HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*

HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

IV - Espectrofotometria no Infravermelho

IFA - Ingrediente farmacêutico ativo

LC - *Liquid chromatography*

LT4 - Levotiroxina

MS - *Mass spectrometry*

PD - Produto de Degradação

PERA - *Paediatric Excipient Risk Assessment*

PT4 - Padrão USP de levotiroxina

RMN - Ressonância Magnética Nuclear

SLT4 - Levotiroxina sódica

STEP - *Safety and Toxicity of Excipients for Paediatrics*

T3 - Triiodotironina

T4 - Tiroxina

TSH - Hormônio estimulante da tireoide

UV - Espectrofotometria no ultravioleta

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO *11*

2. OBJETIVOS *15*

2.1 Objetivo geral *16*

2.2 Objetivos específicos *16*

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA *17*

3.1 Hipotireoidismo *18*

3.2 Levotiroxina sódica (SLT4) *21*

3.3 Formulações orais líquidas *24*

3.4 Validação de métodos analíticos *30*

3.5 Estudo de Estabilidade *32*

3.6 Produtos de Degradação *34*

4. CAPÍTULO I: CARACTERIZAÇÃO DO INGREDIENTE FARMACÊUTICO ATIVO *37*

4.1 Introdução *38*

4.2 Caracterização do IFA de LT4 *38*

4.2.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) *38*

4.2.2 Espectrometria de Massas (EM) *39*

4.2.3 Espectrofotometria na Região do Ultravioleta (UV) *41*

4.2.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) *42*

4.2.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) *43*

4.3 Discussão e conclusões gerais *44*

5. CAPÍTULO II: DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO, VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO E ESTUDO DE ESTABILIDADE *45*

5.1 Introdução *46*

5.2 Artigo científico *46*

6. DISCUSSÃO GERAL *69*

7. CONCLUSÃO *73*

8. REFERÊNCIAS *75*

9. ANEXO I *83*

1. INTRODUÇÃO

Sabe-se que a qualidade é um aspecto fundamental em qualquer tipo de produto ou serviço, mas na farmácia hospitalar ela se torna essencial, pois está diretamente relacionada à segurança do paciente. É necessário fornecer formas farmacêuticas adequadas para pacientes com diferentes necessidades. Idosos, crianças e adultos incapazes de engolir formas sólidas utilizam-se de fórmulas líquidas que permitam a confiabilidade na dose (Brasil, 2012; de Vasconcelos and Hamer, 2023). A preparação de formulações líquidas para pacientes pediátricos, em especial, é um desafio para os farmacêuticos pois requerem doses individualizadas tituláveis em miligramas por quilograma de peso corporal. Devem ser considerados fatores exclusivos da pediatria, como a imaturidade do trato gastrointestinal com consequente influência na absorção, e o fato de os recém-nascidos frequentemente terem restrição de líquidos, limitando o volume de medicamento que pode ser recebido (Glass and Haywood, 2006; Bar-Shalom and Rose, 2014).

O hipotireoidismo é uma síndrome clínica resultante da produção ou ação insuficiente dos hormônios tireoidianos tiroxina (T4) e triiodotironina (T3), induzindo a lentificação generalizada dos processos metabólicos. O T3 é majoritariamente formado a partir da metabolização do T4 por deiodinação. Em adultos, na maioria dos casos o hipotireoidismo é causado por uma inflamação chamada Tireoidite de Hashimoto, e precisa ser tratado corretamente ou pode acarretar na redução de desempenho físico e mental, além de alterar níveis de colesterol, aumentando as chances de problemas cardíacos (Geronimo, Schmidt and Salvi, 2018; Brasil, 2022; Ruchała *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2023). Já o hipotireoidismo congênito (HC) afeta crianças, e é uma doença na qual os níveis de hormônio tireoidiano são insuficientes. As causas mais comuns são um defeito no desenvolvimento da glândula tireoide (disgenesia tireoidiana) e um defeito intrínseco na síntese de hormônio tireoidiano (disormonogênese). Além disso, é uma das causas evitáveis mais comuns de deficiência intelectual em todo o mundo (Wassner and Brown, 2013; Brasil, 2020; Rose *et al.*, 2023).

A base do tratamento do hipotireoidismo é a monoterapia de reposição com levotiroxina sódica (SLT4), sendo indicado como terapia de reposição ou suplementar no hipotireoidismo congênito ou adquirido de qualquer etiologia. A forma predominante de SLT4 para uso oral é o comprimido, e no Brasil esta é a única forma farmacêutica encontrada, não havendo formulação líquida registrada (Brasil, 2025a).

Nestes casos, é necessário prepará-la a partir de comprimidos ou cápsulas, e esta prática é chamada derivação farmacêutica. No âmbito hospitalar, a derivação farmacêutica é necessária para pacientes pediátricos, adultos incapazes de deglutir, e aqueles que recebem medicamentos via sonda nasogástrica. Porém, esta prática é demorada e pode levar a erros na dosagem, o que compromete a eficácia terapêutica e consequentemente a segurança do paciente (Glass and Haywood, 2006; Brasil, 2012; Benvenga, Papi and Antonelli, 2017; de Vasconcelos and Hamer, 2023; Liu *et al.*, 2023). Também é importante ressaltar que os excipientes presentes na formulação original dos comprimidos ou cápsulas podem gerar interações potenciais com os que serão agregados na manipulação. Além disso, muitos fatores afetam a estabilidade dos medicamentos, como a temperatura, exposição à luz, umidade e calor, e a instabilidade, que afetam diretamente a qualidade (Abdallah and Mohamed, 2016).

Quando derivado, o medicamento deve ser consumido imediatamente e a data de validade não pode ser extrapolada a partir do produto comercial, levando à necessidade de referências atualizadas para a estabilidade. Apesar de a derivação farmacêutica ser uma prática comum na rotina hospitalar, a referência utilizada pelo HCPA para a SLT4 é muito antiga e prevê apenas 8 dias de estabilidade sob refrigeração (Boulton, 1996; Brasil, 2012).

Face ao exposto, justifica-se desenvolver uma forma farmacêutica líquida de uso oral contendo levotiroxina sódica para uso hospitalar e pediátrico, bem como avaliar sua estabilidade e determinar seu prazo de validade. Justifica-se, também, o desenvolvimento e validação de método analítico para avaliar o teor de LT4 na forma farmacêutica.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver uma formulação oral líquida de levotiroxina sódica e avaliar sua estabilidade físico-química e microbiológica, comparando diferentes embalagens.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar o insumo farmacêutico ativo (IFA) de levotiroxina sódica pelas técnicas analíticas de espectrofotometria na região de Infravermelho (IV) e no ultravioleta (UV), espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), espectrometria de massas (EM) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE);
- Desenvolver formulação oral líquida de levotiroxina sódica contendo excipientes adequados para uso pediátrico, usando a base de dados STEP e a ferramenta PERA;
- Desenvolver e validar método analítico por CLAE para determinação quantitativa da levotiroxina sódica em formulações líquidas;
- Avaliar o teor, aspecto, pH e características organolépticas da formulação;
- Realizar o estudo de estabilidade físico-química e microbiológica a fim de determinar o tipo de embalagem e as condições de armazenamento mais adequadas para a formulação;
- Comparar a embalagem sachê com o frasco de vidro âmbar, avaliando sua viabilidade, bem como o envase e o impacto na estabilidade da formulação.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Hipotireoidismo

O hipotireoidismo é uma síndrome onde os níveis séricos de tiroxina (T4) são baixos, por estarem sendo produzidos insuficientemente. Em adultos, a maioria dos casos são causados pela tireoidite de Hashimoto, que é uma condição autoimune crônica que afeta a glândula tireoide. Nessa enfermidade, auto anticorpos atacam e danificam as células tireoidianas, prejudicando sua função hormonal, deixando de produzir quantidades suficientes de T4 (tetraiodotironina ou tiroxina) e T3 (triiodotironina ou liotironina), diminuindo seus efeitos. Sem quantidades suficientes de hormônios tireoidianos circulantes, surgem os sintomas do hipotireoidismo como fadiga, aumento da frequência cardíaca, depressão, pele e cabelos secos, câimbras, constipação, ganho de peso, memória comprometida e baixa tolerância a temperaturas baixas (Jonklaas *et al.*, 2014; Tang *et al.*, 2019). Esta doença representa uma das principais causas de disfunção da tireoide globalmente, e sua incidência tem crescido consideravelmente ao longo dos últimos anos (Antero *et al.*, 2024). O tratamento hormonal substitutivo inadequado implica uma carga maior tanto para o paciente quanto para o sistema de saúde, em termos de consultas médicas adicionais, análises laboratoriais frequentes e a necessidade de ajustar continuamente a dose de LT4 (Iglesias, 2024).

Os hormônios da tireoide aumentam a taxa metabólica das células de todos os tecidos do corpo humano. Em fetos e recém-nascidos, eles são importantes para o crescimento e desenvolvimento de todos os tecidos, incluindo ossos e o cérebro. Em adultos, ajudam a manter as funções cerebrais, metabolismo dos alimentos e temperatura corporal, entre outros efeitos. O TSH (hormônio estimulante da tireoide) é liberado pela hipófise, e em resposta a isso a glândula tireoide saudável irá produzir e secretar T4, que nos tecidos periféricos é então convertido ao metabólito ativo T3 (Osmak-Tizon *et al.*, 2014). A Figura 1 mostra a regulação fisiológica dos hormônios tireoidianos.

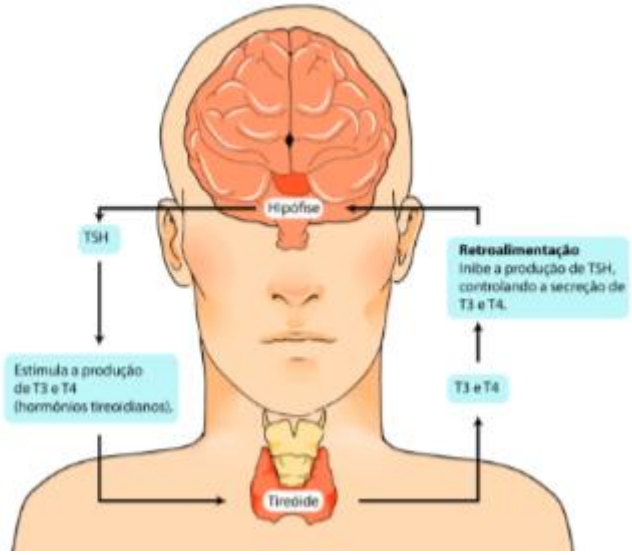


Figura 1 – Regulação fisiológica dos hormônios tireoidianos.

O hipotireoidismo congênito (HC) afeta crianças e é uma das causas preveníveis mais comuns de deficiência intelectual no mundo. Esta é uma condição na qual os níveis de hormônios tireoidianos são insuficientes para o desenvolvimento e função normais dos tecidos corporais. Na maioria das crianças afetadas, a doença é permanente e resulta do desenvolvimento anormal da glândula tireoide ou um defeito na síntese dos hormônios tireoidianos (HC primário). Em casos raros, o HC pode resultar do controle hipotalâmico ou pituitário anormal das funções tireoidianas (HC central). Em alguns pacientes, a disfunção da tireoide é transitória e normaliza com o tempo. O acompanhamento clínico e laboratorial das crianças com HC é essencial para o manejo, pois, se não tratado, o HC conduz a deficiências intelectuais. O diagnóstico imediato é feito através do rastreio neonatal, que permite um tratamento precoce e adequado, levando a resultados neurocognitivos normais na idade adulta. No entanto, o rastreio neonatal para o hipotireoidismo ainda não está estabelecido em muitos países, e 70% dos recém-nascidos em todo o mundo não são submetidos a ele (Rose *et al.*, 2023).

A incidência mundial do HC primário varia de 1:1.500 a 1:4.000 nascidos vivos, e no Brasil a incidência é de 1 caso para cada 2.595 - 4.795 nascidos vivos. Já o HC central ocorre no Brasil aproximadamente entre 1:25.000 e 1:100.000 nascidos vivos (Brasil, 2020).

Além da triagem neonatal, o manejo do HC requer a confirmação do diagnóstico, a interpretação precisa dos testes de função tireoidiana, o tratamento eficaz e o acompanhamento consistente. Quando os sintomas clínicos e os sinais de hipotireoidismo estiverem presentes (como fontanela posterior grande, língua grande, hérnia umbilical, icterícia prolongada, constipação, letargia e/ou hipotermia), é indicada a dosagem do TSH e do T4 livre no soro, independentemente dos resultados da triagem (Rose *et al.*, 2023).

Em adultos, o objetivo do tratamento com SLT4 é normalizar os níveis séricos de TSH, sendo a meta terapêutica entre 0,5 e 2,5 mU/L em pacientes jovens e adultos. Para crianças com HC, as metas do tratamento são manter o eutireoidismo consistente com TSH normal e T4 livre na metade superior da faixa de referência específica para a idade durante os primeiros 3 anos de vida (Rose *et al.*, 2023).

Embora o tratamento com SLT4 pareça ser simples e apresentar apenas efeitos benéficos para pacientes com hipotireoidismo, sempre é importante considerar interações medicamentosas, fisiológicas, patológicas e alimentares. Por isso, o paciente deve ser assistido pela equipe de saúde e realizar dosagens hormonais frequentes para o acompanhamento do tratamento a fim de ajustar a dose. Sobre a posologia, a concentração de SLT4 administrada não é fixa, devido às muitas condições individuais que podem alterar as necessidades de cada paciente, como por exemplo: idade, disfunção na absorção, alimentação, gestação e administração de outros fármacos (Geronimo, Schmidt and Salvi, 2018).

Apesar das variações posológicas, o fracionamento dos comprimidos não é recomendado e, por isso, comercialmente existem distintas apresentações orais sólidas de SLT4: 25µg, 38µg, 50µg, 75µg, 88µg, 100µg, 112µg, 125µg, 150µg e 200µg por comprimido. A dose média de SLT4 requerida para adultos pode variar entre 1,0 e 1,7µg/kg e, em idosos, esse valor vai de 1,0 a 1,5µg/kg (Geronimo, Schmidt and Salvi, 2018). Para crianças com HC, o tratamento inicial é a SLT4 10 a 15 µg/kg diariamente (Rose *et al.*, 2023). Quando mesmo em altas doses de SLT4 (acima de 2 µg/kg/dia) os níveis de TSH não estabilizam, devem ser avaliados os fatores de má adesão, interferência por drogas e síndromes de má absorção (Geronimo, Schmidt and Salvi, 2018).

3.2 Levotiroxina sódica (SLT4)

A levotiroxina (LT4) é o levo isômero do hormônio tireoidiano tiroxina (T4) produzido sinteticamente, similar ao hormônio endógeno produzido pela tireoide. O T4 é o hormônio mais secretado pela glândula tireoide e tem as funções de aumentar a taxa metabólica, diminuir a produção do TSH pelo lobo anterior da glândula pituitária, e, em tecidos periféricos, é convertido a T3. A T4 é liberada de sua proteína precursora tiroglobulina através de proteólise e secretada ao sangue, onde é perifericamente deionizado à forma T3, que exerce uma gama de efeitos estimulantes no metabolismo celular. O T4 e T3 têm uma potência relativa de 1:4, e embora o T4 seja mais secretado, o T3 é que exerce a maioria dos efeitos fisiológicos. Eles agem em praticamente todas as células do corpo, mas tem um especial efeito no sistema cardíaco, então funções como frequência cardíaca e resistência vascular sistêmica são relacionadas à tireoide (Klein and Ojamaa, 2001; Osmak-Tizon *et al.*, 2014; Sandoz, 2017; DrugBank, 2025).

A levotiroxina sódica (SLT4) (Figura 2) é o sal sódico da T4, e é utilizada como reposição em síndromes como o hipotireoidismo, onde os níveis hormonais são deficitários, e atua da mesma forma que a T4 endógena, sendo convertida no fígado e nos rins em T3 (Patel *et al.*, 2003; Geronimo, Schmidt and Salvi, 2018; Tanguay *et al.*, 2019; Gietka-Czernel *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2023).

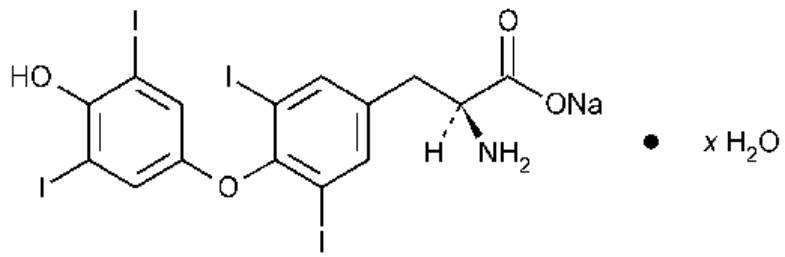


Figura 2 - Estrutura Química da Levotiroxina Sódica.

O princípio ativo SLT4 apresenta as seguintes características físico-químicas: Nome químico sodium (2S)-2-amino-3-[4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodophenyl]propanoate, registro no Chemical Abstracts Service (CAS) 55-03-8, fórmula molecular C15H10I4NNaO4, peso molecular 798,85 g/mol, pKa 0,27, pKb 9,43 e LogP 3,73 (PubChem, 2025).

A levotiroxina tem um índice terapêutico estreito e é titulada para manter o TSH sérico dentro de uma faixa terapêutica de 0,4 a 4,0 mU/L. O tratamento excessivo ou insuficiente pode ter efeitos adversos sobre o crescimento e o desenvolvimento, a função cardiovascular, o metabolismo ósseo, a função reprodutiva, a função cognitiva, o estado emocional, a função gastrointestinal e o metabolismo da glicose e dos lipídios. Para evitar esses efeitos, a dose de levotiroxina deve ser titulada lenta e cuidadosamente e a resposta do paciente à titulação deve ser monitorada. Os níveis de TSH devem ser verificados pelo menos uma vez por ano para evitar o tratamento excessivo, que pode levar ao hipertireoidismo (TSH <0,1 mIU/L) e a sintomas como aumento da frequência cardíaca, diarreia, tremores, hipercalcemia e fraqueza. Em populações com qualquer problema cardíaco, a levotiroxina deve ser iniciada em doses mais baixas do que as recomendadas para indivíduos mais jovens ou para pacientes sem doença cardíaca. Os pacientes que recebem levotiroxina e agentes simpatomiméticos concomitantemente devem ser monitorados quanto a sinais e sintomas de insuficiência coronariana. Se os sintomas cardíacos se desenvolverem ou piorarem, deve-se reduzir a dose de levotiroxina ou suspender por uma semana e reiniciar com uma dose menor. A reposição excessiva de levotiroxina pode causar também o aumento da reabsorção óssea e a diminuição da densidade mineral óssea, principalmente em mulheres na pós-menopausa (Garber *et al.*, 2012).

Quando administrada por via oral, a absorção da SLT4 pelo trato gastrointestinal varia de 40 a 80% sendo a maioria da dose absorvida pelo jejuno e porção superior do íleo. A absorção de SLT4 é aumentada pelo jejum, e diminuída em casos de síndrome de má absorção, por alguns alimentos e com a idade. A circulação dos hormônios tireoidianos ocorre mais de 99% ligado a proteínas plasmáticas, incluindo a globulina de ligação à tiroxina, a pré-albumina de ligação à tiroxina e a albumina. A maior afinidade delas pelo T4 explica parcialmente os níveis séricos mais altos, a depuração metabólica mais lenta e a meia-vida mais longa do T4 (6 a 7 dias) em comparação com o T3 (1 a 2 dias). Os hormônios da tireoide ligados às proteínas existem em equilíbrio reverso com pequenas quantidades de hormônio livre, em que apenas o hormônio não ligado é metabolicamente ativo. Aproximadamente 70% do T4 secretado é metabolizado a quantidades equivalentes de T3 e T3 reverso, que é calorigenicamente inativo. O T4 é lentamente eliminado por sua rota metabólica principal a T3 via deiodação sequencial, onde aproximadamente

80% do T3 circulante é derivado do T4 periférico. O fígado é o principal local de degradação de T4 e T3, sendo que a deiodação de T4 também ocorre em vários outros locais, inclusive nos rins e em outros tecidos. Já a eliminação de T3 e T4 é feita principalmente pelos rins, e apenas uma parte (20%) é eliminada nas fezes, que envolve conjugação hepática aos ácidos glucurônico e sulfúrico. Os hormônios passam pela circulação entero-hepática à medida que os conjugados são hidrolisados no intestino e reabsorvidos, então os conjugados que chegam ao cólon são hidrolisados e eliminados como compostos livres nas fezes (Garber *et al.*, 2012).

Para avaliar a eficácia do tratamento são dosados os níveis séricos de TSH, T4 livre e T3 livre. São considerados normais os níveis séricos de T4 livre entre 8,0 e 19,0pg/mL, de T3 livre entre 2,4 e 4,7pg/mL, e TSH entre 0,4 e 4,5 mU/L (Cappelli *et al.*, 2016). A eficácia da SLT4 pode ser afetada por vários fatores como problemas de aderência ao tratamento, fatores nutricionais, farmacológicos e patológicos (Iglesias, 2024).

Geronimo e colaboradores avaliaram em 2018 a influência destes fatores no tratamento do hipotireoidismo com SLT4. Como resultados, foi relatado que a absorção intestinal da SLT4 pode ser prejudicada por diferentes condições como ressecções gástricas e intestinais ou doenças. Pacientes com infecção por *Helicobacter pylori*, gastrite atrófica ou alteração da secreção ácida gástrica necessitam de um aumento na dosagem de SLT4. Além disso, já foi relatada associação da presença da bactéria *H. pylori* com o desenvolvimento da tireoide de Hashimoto, pois a infecção promove a inflamação crônica da mucosa gástrica, seguida pelo aumento do pH gástrico, desta forma, se compreende a influência deste estado na absorção completa do fármaco (Geronimo, Schmidt and Salvi, 2018). Ribichini e colaboradores (2017), evidenciaram que a formulação líquida de SLT4 produz resultados clínicos significativos em comparação ao comprimido para os pacientes com hipotireoidismo infectados por *H. pylori* (Ribichini *et al.*, 2017).

Outro fator que afeta a eficácia da SLT4 é a intolerância a lactose, onde os pacientes podem ter absorção diminuída do fármaco, e nesses casos uma dieta isenta de lactose reflete na melhoria dos níveis de TSH em pacientes com intolerância a lactose tratados com SLT4. A doença celíaca, uma doença intestinal inflamatória crônica induzida por precipitante ambiental e pelo glúten em indivíduos geneticamente

suscetíveis e a Tireoidite de Hashimoto são doenças de causa autoimune e correspondem às principais causas do hipotireoidismo primário. A suspeita da relação da doença celíaca com o hipotireoidismo ocorre através do quadro de resistência ao tratamento com SLT4, e a introdução de uma dieta isenta de glúten pode melhorar a absorção e consequentemente reduzir a dose de SLT4 (Muñoz-Torres, Varsavsky and Alonso, 2006; Asik *et al.*, 2014; Cellini *et al.*, 2014).

Um estudo realizado por Cassio em 2013 avaliou os efeitos de formulações líquidas e comprimidos de SLT4 em crianças com HC diagnosticadas por triagem neonatal. Ao todo, 42 bebês foram divididos de acordo com o grau da doença (severa ou moderada/leve), e aleatoriamente receberam SLT4 líquida (grupo 1) ou comprimidos (grupo 2), na dose de 12 - 13.5 µg/kg/dia para HC severo e 10 - 11.5 µg/kg/dia para HC moderado/leve. Como resultado, na forma severa após 15 dias de tratamento, os níveis de TSH se tornaram normais em 8 dos 9 pacientes que receberam SLT4 líquida e em 5 dos 9 pacientes que receberam comprimidos. Os níveis de T3 livre foram significativamente maiores no grupo 1, e de T4 livre foram maiores que o limite máximo considerado normal em ambos os grupos. Durante o acompanhamento, mais pacientes do grupo 1 tiveram níveis de TSH diminuídos. Na forma moderada, ambos os grupos tiveram valores médios de TSH, T3 livre e T4 livre sem diferenças significativas. Ao final, os dados sugerem que não há completa equivalência entre a formulação líquida e os comprimidos, especialmente em bebês com HC severo e moderado (Cassio *et al.*, 2013).

No Brasil, a RENAME (Relação Nacional de Medicamentos Essenciais) é a lista que apresenta os medicamentos disponíveis pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Em relação à levotiroxina sódica, esta contém a forma farmacêutica comprimidos apenas, o que significa que os brasileiros portadores de hipotireoidismo que necessitam deste medicamento só possuem essa opção de tratamento pelo SUS e fora dele também (Brasil, 2024b).

3.3 Formulações orais líquidas

A SLT4 líquida apresenta certas vantagens em relação aos comprimidos, comprovadas por estudos que demonstraram uma maior taxa de absorção de LT4, uma concentração máxima no sangue em um tempo mais curto e níveis mais baixos e estáveis de TSH. Além disso, evitam os inconvenientes associados aos

comprimidos, facilitam a terapia para os pacientes com dificuldades para engolir (Iglesias, 2024). As formulações líquidas de SLT4 oferecem a vantagem de permitir que os pacientes tomem a medicação junto com as refeições ou o café, evitando assim o período de espera atualmente recomendado de 30 a 60 minutos, facilitando o cumprimento terapêutico. Essa possibilidade foi confirmada em vários estudos que não encontraram diferenças significativas nos níveis séricos de TSH, T4 livre ou T3 livre entre a solução líquida de SLT4 com ou sem períodos de espera antes do café da manhã, do consumo de café ou de uma refeição rica em gorduras. De qualquer forma, a administração de SLT4 na forma líquida pode gerar uma resposta clínica mais favorável em comparação com os comprimidos (Benvenga, Di Bari and Vita, 2017).

Sobre interações medicamentosas, os principais medicamentos capazes de interagir com a SLT4 são anticoagulantes orais; antidiabéticos orais e insulina; indutores enzimáticos; glicocorticoides e amiodarona; inibidores da protease; inibidores da tirosina quinase; salicilatos e estrógenos; furosemida; inibidores da bomba de prótons e modificadores da motilidade intestinal. O envelhecimento aliado à polimedicação potencializa a ocorrência de interações medicamentosas, sendo que, na maioria das vezes, as que interferem na absorção de SLT4 não chegam de forma clara e precisa aos pacientes, que raramente são orientados no momento do diagnostico ou até mesmo na dispensação do medicamento (Geronimo, Schmidt and Salvi, 2018).

Existe também uma interação reconhecida de SLT4 com alimentos derivados de soja, café e fibras, que são capazes de diminuir a biodisponibilidade. Alguns componentes destes alimentos interferem na absorção da SLT4, desta forma, a posologia enfatiza a necessidade do adiamento do café da manhã por pelo menos uma hora após a ingestão da SLT4, para que ocorra uma absorção satisfatória. Outra interação importante ocorre com suplementos de cálcio, magnésio, ferro e alumínio, pela formação de complexos insolúveis. Estes são comumente encontrados em antiácidos e vitaminas. Nesses casos, a ingestão do suplemento deve ser feita após 4 horas da administração da SLT4 (Garber et al., 2012; Geronimo et al., 2018).

A absorção e biodisponibilidade da SLT4 quando tomado na forma de comprimido demonstraram diminuir significativamente com a ingestão concomitante

de alimentos. Portanto, recomenda-se que as formulações de SLT4 sejam tomadas com o estômago vazio pelo menos 30 minutos, idealmente 60 minutos, antes do café da manhã, o que pode afetar a adesão à terapia (Ducharme *et al.*, 2022). A forma líquida tem a vantagem de não ser influenciada pelos fatores que diminuem a absorção da SLT4 em comprimidos. Porém, as formas farmacêuticas líquida e sólida não apresentam diferenças estatisticamente significativas em pacientes sem má-absorção (Geronimo, Schmidt and Salvi, 2018).

Cappelli e colaboradores avaliaram em 2016 o efeito da administração de SLT4 no café da manhã por meio de ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado por placebo e cruzado. Pacientes com hipotireoidismo não tratados anteriormente foram aleatoriamente designados para receber uma solução oral de SLT4 (as doses variaram de 25, 50, 75, a 100 µg dissolvido em 1mL de solução 85% glicerina e 96% etanol) pelo menos 30 minutos antes do café da manhã ou diretamente no momento do café da manhã. Um total de 77 pacientes (64 mulheres, idade 45,4 ± 3,7 anos) completaram o estudo. Como resultado, nenhuma diferença estatisticamente significativa nos níveis séricos de TSH, T4 livre e T3 livre foi observada quando SLT4 foi administrada no momento da refeição ou 30 minutos antes em jejum. Nenhum efeito significativo da sequência de regimes, composição do café da manhã e/ou medicamentos administrados concomitantemente na dose de SLT4 administrada ou nos valores séricos de TSH pós-tratamento. Ao final, foi concluído que uma formulação líquida de SLT4 pode ser ingerida diretamente no café da manhã, melhorando potencialmente a adesão terapêutica. Essa observação é de considerável relevância clínica, uma vez que a não adesão à terapia com SLT4 aumenta a susceptibilidade de ocorrer variabilidade nas concentrações séricas de TSH (Cappelli *et al.*, 2016).

Por outro lado, Ducharme e colaboradores avaliaram em 2022 a administração de uma solução oral de SLT4 15 e 30 minutos antes do café da manhã. No total, 33 voluntários saudáveis (24 homens e 9 mulheres) completaram o estudo randomizado que envolveu a administração de alta dose de SLT4 após jejum de 10 horas. Uma dose única de 600µg (4 ampolas de 150 µg/mL) de SLT4 solução oral foi administrada 15 ou 30 minutos antes de uma refeição padronizada, rica em gordura e calorias em um ambiente de pesquisa controlado. Foi medida a tiroxina sérica total no início do estudo e em vários momentos até 72 horas após a administração. Como conclusão,

os autores não observaram nenhuma diferença significativa nas propriedades farmacocinéticas da solução de SLT4 administrada 15 e 30 minutos antes de uma refeição rica em gordura e calorias em indivíduos normais, então o intervalo entre a administração e o consumo de alimentos poderia ser reduzido de 30 para 15 minutos. Porém são necessárias mais pesquisas para avaliar a diferença na biodisponibilidade imediatamente antes da refeição e a eficácia real em pacientes com hipotireoidismo (Ducharme *et al.*, 2022). De forma semelhante, Bernareggi e colaboradores avaliaram a administração de uma solução oral de SLT4 comercial em dose única misturada em volumes iguais de leite, chá, café, café com leite a 50ºC e suco de laranja. As análises por LC-MS/MS demonstraram que a solução oral de SLT4 foi estável em todas as bebidas após 20min, com teores variando de 85,9% a 112,7% no tempo zero (foi aceita uma variação de ±15%), porém ressaltam que é necessário investigar se a ingestão concomitante de SLT4 com alimentos pode afetar a biodisponibilidade (Bernareggi *et al.*, 2013).

Benvenga e colaboradores realizaram em 2017 um estudo para avaliar se uma formulação líquida de SLT4 seria capaz de corrigir a má absorção da levotiroxina em comprimidos induzida pelo cálcio ou pelo ferro, dois sequestrantes da levotiroxina. Participaram 19 pacientes adultos com hipotireoidismo e má absorção de LT4 em comprimidos causada por suplementos de cálcio e/ou ferro, que passaram a tomar levotiroxina líquida na mesma dosagem. Como resultados, a SLT4 líquida gerou níveis de TSH sérico mais baixos tanto no grupo cálcio quanto no grupo ferro, o que levou a conclusão que a SLT4 líquida é resistente ao sequestro por cálcio ou ferro. Além disso, o TSH foi normalizado dentro de 6 – 8 semanas, o que deve evitar ajuste de dose e exames laboratoriais frequentes, facilitando o tratamento (Benvenga, Di Bari and Vita, 2017).

Desde janeiro de 2022, a formulação líquida de SLT4 está disponível na Espanha. Esta apresentação consiste em uma solução transparente e incolor fornecida em embalagens unidose de 1 mL de cor branca opaca. A formulação é composta por SLT4, com doses que variam de 13 a 200 µg, e glicerol a 85% (Iglesias, 2024). Já nos Estados Unidos, existem formulações líquidas de SLT4 disponíveis comercialmente desde 2016, contendo por exemplo glicerina, ácido cítrico, metilparabeno, hidróxido de sódio, EDTA como excipientes. Recentemente, outras tecnologias estão sendo testadas para desenvolvimento de formulações contendo

SLT4, e foram encontradas patentes de microesferas de liberação modificada (Wang Jianchen *et al.*, 2024), micro comprimidos de desintegração oral (Chen Wenyi *et al.*, 2024) e complexos com ciclodextrinas (Wilfried Fischer and Daniel Bracher, 1999). Sistemas nanotecnológicos estão sendo testados a fim de gerar perfil de liberação modificada e aumentar a biodisponibilidade da SLT4, mas poucos estudos evoluem para testes *in vivo* (Liu *et al.*, 2023).

3.3.1 Excipientes para pediatria

As formas líquidas orais são formulações complexas que exigem o uso de vários excipientes, como conservantes antimicrobianos e adoçantes para melhorar o sabor, o que aumenta o risco de toxicidade. O etanol é um excipiente preocupante para as agências regulatórias pois pode causar neurotoxicidade, explicado por seu baixo peso molecular, que o torna facilmente permeável à barreira hematoencefálica. Ele é amplamente utilizado como solvente, co-solvente, conservante antimicrobiano e solvente de extração em medicamentos fitoterápicos. É rapidamente absorvido, principalmente no duodeno e no jejuno, e parcialmente no estômago (Bar-Shalom and Rose, 2014; Anfarmag, 2024; Bobillot *et al.*, 2024).

A base de dados Safety and Toxicity of Excipients for Paediatrics (STEP) contém vários relatos de toxicidade neurológica, danos cerebrais, perda de consciência, hipoglicemia, coma hipoglicêmico, acidose e alterações hidroeletrolíticas relacionadas ao etanol (EuPFI, 2017). É proposto evitar sua administração antes dos 2 anos de idade e estabelecer uma dose máxima de 6 mg/kg entre 2 e 5 anos de idade e 75 mg/kg acima de 6 anos de idade. Esses limites foram calculados com base em um aumento na concentração de álcool no sangue de 0,01 g/L para crianças com menos de 5 anos de idade e 0,125 g/L para crianças com mais de 5 anos de idade, que não deve ser excedido (Bobillot *et al.*, 2024). Por isso, no presente estudo, para evitar o uso de etanol, foi escolhida a glicerina como co-solvente da formulação.

A glicerina é utilizada como solvente, adoçante, agente de viscosidade e conservante antimicrobiano em soluções e suspensões orais. Em geral, os efeitos tóxicos relatados na população pediátrica são toxicidade gastrointestinal e metabólica, como diarreia e distúrbios eletrolíticos, principalmente quando é usado em altas concentrações. A STEP relata apenas um caso de hipoglicemia grave

durante o uso oral em crianças (EuPFI, 2017). Efeitos neurológicos, como encefalopatia aguda, também foram relatados na literatura quando altas concentrações foram usadas em adultos. Com base nessas observações, foi estabelecido um máximo de 10 g por dose em formas orais. Entretanto, esse limite não é específico para uso pediátrico (Bobillot *et al.*, 2024).

Sobre os parabenos, o metil parahidroxibenzoato (metilparabeno) e o propilparahidroxibenzoato (propilparabeno) são os mais utilizados como conservantes, pois são efetivos em uma ampla faixa de pH e apresentam um amplo espectro de atividade antimicrobiana. Estima-se que estejam presentes em 82% das formulações orais identificadas. Porém, na STEP não há dados clínicos em crianças (EuPFI, 2017). Com base nesses dados, a autoridade Europeia para a segurança dos alimentos European Food Safety Authority (EFSA) estabeleceu uma ingestão diária aceitável de no máximo 10 mg/kg para a soma de metilparabeno, etilparabeno e propilparabeno. O hidróxido de sódio é utilizado nas formulações líquidas para corrigir o pH, e não tem casos relatados de toxicidade associados na literatura nem na STEP, portanto não é considerado um excipiente perigoso, e não há valor ingestão diária aceitável (EuPFI, 2017; Bobillot *et al.*, 2024).

Bobillot e colaboradores em 2024 conduziram um estudo analisando os excipientes de formulações líquidas disponíveis comercialmente no mercado Francês. Foi relatado que a maioria das formulações administradas a crianças e recém-nascidos contém excipientes em faixas de dose que podem induzir à toxicidade com o uso prolongado. Das 219 formulações estudadas, 14% continham etanol e 38% continham benzoato de sódio. Além disso, as formulações adaptadas à pediatria ainda são raras, e nem sempre é possível encontrar alternativas seguras aos medicamentos. Por isso, os dados sobre a toxicidade específica dos excipientes de interesse pediátrico precisam ser mais bem documentados, e há necessidade de desenvolver formulações adaptadas ao uso pediátrico (Bobillot *et al.*, 2024).

É relatado na literatura e evidenciado na rotina hospitalar a carência de formulações específicas para público pediátrico. Acerca deste tema, Balsan e colaboradores publicaram uma revisão bibliográfica que destaca a alta prevalência de prescrições de medicamentos *off-label* e derivados a partir de comprimidos para uso pediátrico, principalmente nos setores de unidades de terapia intensiva neonatais e

pediátricas, onde está a parcela mais jovem dessa população, e também a mais suscetível a reações adversas. Além disso, as grandes barreiras para conduzir estudos clínicos nessa população são discutidas, pois estes são essenciais para que possam ser aplicados tratamentos seguros e eficazes (Balsan, Gobetti and Garcia, 2022).

Salunke e colaboradores desenvolveram um método de avaliação de risco dos excipientes para uso pediátrico chamado Paediatric Excipient Risk Assessment (PERA). Neste, a abordagem sistemática proporciona uma tomada de decisões estruturada através de ferramentas e processos personalizáveis. Quatro estágios são necessários para avaliação do risco, são eles: identificação do risco por busca de evidências, avaliação do risco (que utiliza um esquema de cores), gestão de risco e revisão dos riscos (Agrawal *et al.*, 2024; Salunke *et al.*, 2024).

3.4 Validação de métodos analíticos

A validação de métodos analíticos deve demonstrar que o método analítico em questão produz resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se destina. Para tal, os parâmetros a serem considerados dependem do ensaio a ser realizado. Quando a finalidade é o doseamento são avaliados os parâmetros de linearidade, precisão (repetibilidade e intermediária), exatidão e seletividade (Brasil, 2017; ICH, 2023).

Laboratórios clínicos usam HPLC e HPLC-MS/MS para determinação do T4 e T3 livres ou totais, entretanto a maioria dos métodos desenvolvidos são focados na determinação dos hormônios tireoidianos para fins de diagnóstico, não para doseamento do ativo em formulações (Dutt *et al.*, 2020). Porém, existem métodos na literatura para a identificação e determinação quantitativa de levotiroxina sódica, inclusive na Farmacopeia Americana (United States Pharmacopeia, 2019). A partir da revisão bibliográfica realizada, foram encontrados 10 métodos por CLAE para a identificação e determinação da levotiroxina sódica (Shah *et al.*, 2008; Collier *et al.*, 2011; Frenette *et al.*, 2011; Bernareggi *et al.*, 2013; United States Pharmacopeia, 2019; Meyer *et al.*, 2020; Sreeramoju, Digenis and May, 2021; Stewart *et al.*, 2021; Mansourian *et al.*, 2023). A tabela 1 descreve os métodos revisados quanto aos parâmetros cromatográficos.

Tabela 1 – Métodos cromatográficos de quantificação de SLT4 revisados.

Método	Faixa de Trabalho	Amostra	Fase Móvel (FM)	Coluna / ʎ	Taxa de Fluxo	Volume de Injeção	Finalidade
USP	10 µg/mL	10 µg/mL SLT4 em FM	Acetonitrila e água (4:6) + 0,5 mL de ácido fosfórico para cada 1000 mL	CN 4,6-mm × 25 cm / 225 nm	1,5 mL/min	100 µL	Teor
Sreeramoju, 2020	2 µg/mL	solução oral diluída a 2 µg/mL	(A) 9,7g ácido sulfâmico em 2L de água destilada + 1,5g NaOH pH 2,0 (B) acetonitrila Diluente preparado combinando B:metanol:A, (30:63:7).	Luna 3µm C18, 100Å, (150 × 4 mm) / 225 nm	1,15 mL/min	25 µL	Impurezas
Collier, 2011	10 µg/mL.	100% metanol para solução estoque 100 µg/mL.	(A) tampão fosfato 0,01 M (pH = 3,0) (B) metanol Gradiente 45-20% A 7 min, 20% A de 7 a 12 min, 20-45% A de 12 a 16 min, e 45% A.	C18 (3,9 mm × 150 mm, 4µm). 28 ◦C / 225 nm.	1,0 mL/min	800 µL.	Teor
Mansourian, 2023	5 µg/mL	-	750mL água ultrapura + 2 mL ácido ortofosfórico : acetonitrila (70:30)	CN 4,6 mm × 250 mm a 25 ◦C / 225 nm	1,0 mL/min	50 µL	Teor
Meyer, 2020	-	100% metanol	(A) água ultrapura com 0.05% ácido trifluoroacético (TFA) (B) acetonitrila com 0.05% TFA	Luna C18, (503 mm x 3 mm) 40ºC / 226 nm	1,0 mL/min	-	Teor
Shah, 2008	10 µg/mL	Solução 0,01M hidróxido de sódio e metanol	(A) 0,1% TFA e (B) acetonitrila de 92 a 8% A em 25 min 8% A de 25 a 30 min, de 8 para 92% A de 30 a 35 min	Inertsil ODS 2 (250 mm × 4,6 mm, 5 µm) 25 ◦C / 223 nm	0,8 mL/min	50 µL	Impurezas
Bernareggi, 2013	100 µg/mL	100% metanol	Água + 0,1% ácido fórmico (A) e acetonitrila + 0,1% ácido fórmico (B) gradiente	Accucore RP-MS, (50 × 2,1 mm, 2,6 µm) 35 °C / MS	0,5 mL/min	15 µL	Teor
Frenette, 2011	100 µg/mL	5 mL NaCl 0,9%	Acetonitrila 33% e 60% água ultrapura com 0,5 mL de ácido fosfórico para 1000 mL	5µm, 4,6 × 250 mm / 225 nm	1,0 mL/min	100 µL	Teor
Stewart, 2021 Método A	-	100% etanol	Acetonitrila : 0,1% TFA 65:35% v/v	SphereClone TM C18 ODS 30 ºC / 225 nm	0,9 mL/min	50 µL	Teor

Método	Faixa de Trabalho	Amostra	Fase Móvel (FM)	Coluna / λ	Taxa de Fluxo	Volume de Injeção	Finalidade
Stewart, 2021 Método B	-	100% etanol	Acetonitrila : 0,1% TFA 50:50% v/v	Zorbax Eclipse plus C18 30 ºC / 225 nm	0,6 mL/min	50 µL	Teor

Destes, foram escolhidos três mais adequados à rotina para serem testados na prática: Mansourian *et al*, 2023, Stewart *et al*, 2021 e USP, 2019. As condições cromatográficas foram testadas a fim de verificar as mais adequadas, de forma que atendam aos parâmetros de adequabilidade do sistema. Após os testes, o método escolhido como base foi o de Mansourian *et al*, 2023.

3.5 Estudo de Estabilidade

O estudo de estabilidade (EE) das formas farmacêuticas é uma etapa extremamente importante do desenvolvimento do produto, pois esta determina o prazo de validade e as condições de armazenamento ao qual deve ser submetido, a fim de garantir o uso seguro e eficaz. Segundo a RDC 318 de 2019, existem três tipos básicos de EE, o Acelerado que visa avaliar possíveis alterações físicas, químicas e microbiológicas de IFA ou medicamentos, em condições forçadas de armazenamento; o de Acompanhamento que tem o objetivo de monitorar e confirmar o prazo de validade para medicamento ou IFA; o de Longa Duração, que serve para a verificação das características físicas, químicas e microbiológicas de IFA ou medicamento nas condições de armazenamento e prazo de validade propostos e o EE em Uso que avalia produtos multidose, já que o prazo de validade não é, necessariamente, aplicável após a embalagem ser aberta (Brasil, 2019b).

Sabendo que o armazenamento é uma etapa interferente na estabilidade, a embalagem sachê, já utilizada para o acondicionamento de alimentos, está sendo implementada nos hospitais do Rio Grande do Sul para a unitarização de doses de formas farmacêuticas líquidas. Para tal, a máquina para embalagens unidose Opus MK5, partindo de uma bobina, fraciona a quantidade de líquido, imprime a embalagem e sela, completando a unitarização (iBtek, 2024). O sachê conta com três camadas, sendo uma delas o polipropileno bi orientado (BOPP), que é relatado na literatura

como facilmente moldável, resistente a produtos químicos, solventes e altas temperaturas, atóxico, e excelente para condicionamento de alimentos pois evita o contato do mesmo com oxigênio, variações de temperatura e umidade (Longo *et al.*, 2011). O sachê possui sistema abre-fácil, e quando descartado em aterros transforma-se em matéria orgânica (Opuspac, 2025). No presente estudo, a formulação de SLT4 desenvolvida foi armazenada em frasco de vidro âmbar e no sachê contendo BOPP, para fins de comparação.

Na literatura existem alguns trabalhos que realizaram avaliação da estabilidade de produtos contendo SLT4. Neu e colaboradores em 2014 desenvolveram um método por UHPLC-MS para estudar a cinética de degradação térmica e oxidativa da tiroxina no estado sólido (Neu *et al.*, 2014). Outro estudo avaliou o efeito dos excipientes na estabilidade de comprimidos de SLT4 pentahidratada (Patel *et al.*, 2003). Em 2016 foram estudados os fatores que interferem na estabilidade à luz e à temperatura de uma solução contendo o padrão de SLT4 em metanol (Abdallah and Mohamed, 2016). Já em 2015 foi avaliado o impacto do estado de hidratação e do oxigênio molecular na estabilidade química do IFA de SLT4 (Hamad, Engen and Morris, 2015). Stadalman e colaboradores em 2009 avaliaram a estabilidade de uma solução injetável de SLT4 0,4 µg/mL em cloreto de sódio 0,9% (Stadalman *et al.*, 2009). De forma semelhante, outro estudo avaliou a estabilidade de solução injetável de SLT4 1 µg/mL em embalagens de vidro, PVC e sacos de poliolefina, que demonstrou ser estável por 24 horas exceto no PVC (Frenette *et al.*, 2011).

A referência utilizada pelo HCPA para a estabilidade de formulações extemporâneas contendo SLT4 é de 1996, que avaliou uma derivação de comprimidos de SLT4 em glicerina 40% numa concentração de 25 µg/mL, resultando em 8 dias de estabilidade quando armazenada em frasco de polietileno âmbar a 4°C (Boulton, 1996). Ainda sobre preparações extemporâneas, Glass em 2006 relatou considerações sobre a estabilidade de formas líquidas preparadas a partir de produtos comercialmente disponíveis, e sobre a SLT4 destacou que a degradação aumenta com pHs baixos, e quando uma solução foi preparada a partir do IFA, a degradação foi maior (Glass and Haywood, 2006). Outro estudo conduzido por Meyer e colaboradores avaliou o teor e a consistência de soluções orais preparadas extemporaneamente a 25 µg/mL de SLT4 produzidas por 6 farmácias de manipulação nos Estados Unidos e 6 estudantes de farmácia. As formulações foram aliquotadas

nos dias 3, 6, 13, 20, 27 e 34 após a manipulação para doseamento. Como resultado, foi encontrado uma grande variação no teor de SLT4 entre as farmácias e estudantes, bem como variações nos excipientes e flavorizantes. No dia 3, o teor variou de 77% a 113% de SLT4, e no dia 34 variaram de 30% a 97%. Os autores concluem que SLT4 extemporânea não é capaz de entregar dosagem precisas e performance confiável aos pacientes (Meyer *et al.*, 2020).

Não foram encontrados estudos de estabilidade em formulações orais líquidas de SLT4, apenas as derivações citadas acima. Portanto, além de desenvolver uma formulação a partir do IFA, é necessário também realizar EE, a fim de suprir esta falta na literatura.

3.6 Produtos de Degradação

Produtos de degradação (PD) são definidos como são definidos como impurezas resultantes de alterações químicas do IFA que surgem durante a fabricação e/ou armazenamento do medicamento pelo efeito de fatores como luz, temperatura, pH e água, ou pela reação com um excipiente (Brasil, 2025b). Para que um método analítico seja indicativo de estabilidade para teor, ele deve ser capaz de detectar o fármaco sem interferência de seus produtos de degradação (PD). Assim, se o teor for reduzido por uma degradação, o método será capaz de detectar a redução. Logo, o método precisa ser seletivo para o fármaco frente aos PD (Brasil, 2019a).

O perfil de degradação é o conjunto de PDs observados no IFA ou no medicamento quando exposto a determinada condição. Um método indicativo de estabilidade para PDs é aquele capaz de detectar e quantificar todos os PD relevantes do perfil de degradação. Porém, na prática laboratorial, o desenvolvimento analítico é realizado antes do EE, logo não é possível utilizar as amostras do último tempo do EE para desenvolver o método, além de que a degradação geralmente é pouco significativa no EE. Portanto, é necessário causar deliberadamente a degradação em maior escala do IFA ou medicamento, expondo-os a condições mais extremas que aquela praticada no EE de longa duração. Ou seja, é necessário realizar o estudo de degradação forçada (Brasil, 2015, 2025b).

É relatado na literatura que a SLT4 não é estável a fatores ambientais como altas temperaturas e luz, pois decompõe fotoquimicamente tanto pela luz do dia

quanto por irradiação, formando diversos PD, sendo a liotiroina (T3) o principal deles (Kazemifard, Moore and Aghazadeh, 2001). A Farmacopeia Americana (USP) e a Britânica (BP) permitem no máximo 2% de impurezas totais, incluindo a T3 (máximo 1%) (British Pharmacopoeia, 2013; United States Pharmacopeia, 2019). Não existe monografia de levotiroxina na Farmacopeia Brasileira (FB) (Brasil, 2024a).

Yaday e colaboradores em 2022 desenvolveram um método por UHPLC-MS/MS para monitorar os níveis de LT4 no soro humano em relação ao nível de T4 endógena, e obtiveram êxito em detectar o par iônico 777.60→731.65 da LT4 com ionização electrospray positivo (Yaday *et al.*, 2022). Outros métodos desenvolvidos buscam determinar os PD da SLT4. Em 2013 Neu e colaboradores utilizaram amostra de T4 sólida degradada por temperatura (100ºC por 29h) analisada por UHPLC-MS para gerar um esquema de reações de degradação, e propuseram a estrutura de 13 diferentes PD distinguindo entre primeira e segunda geração, bem como impurezas oriundas da síntese orgânica. Como resultado, as principais reações de degradação foram desiodação e oxidação da cadeia lateral, resultando na formação de tiroxinas deiodadas, ácido actico, ácido benzoico, formaldeído, acetamida, ácido hidroxiacético, ácido oxoacético, hidroxiacetamida e derivados de oxoacetamida. As massas dos 13 PD encontrados foram 731,65; 760,63; 762,64; 759,64; 761,67; 745,66; 746,65; 718,65; 732,63; 716,64; 344,82; 431,85; 649,78 (T3) e 1119,50 (Neu *et al.*, 2013).

Outro estudo conduzido em 2001 utilizou HPLC-MS para analisar os PD da SLT4 em três marcas de comprimidos disponíveis comercialmente e expostos à temperatura (75ºC por 100h) e à luz (1h de irradiação). Como resultado, a SLT4 foi mais sensível à luz, degradando 65% em 1h e 90% em 90 min, gerando seis PD. O íon da T4 teve m/z 778, o PD imediato foi a T3 (m/z 652), que logo se degrada a diiodotironina (m/z 526), e a reação segue para diiodotirosina (m/z 434), iodotironina (m/z 400), iodotirosina (m/z 308) e tirosina (m/z 182). Como conclusão, uma das três marcas de comprimido teve quantidade considerável de PD, e o método pode ser aplicado tanto em IFA quanto em formulações complexas de SLT4 (Kazemifard, Moore and Aghazadeh, 2001).

Também analisando comprimidos, em 2004 foi publicado um estudo que determinou a LT4 e seus PD por HPLC acoplado a ICP-MS (espectrometria de massas acoplada a plasma indutivo). Foram relatados como possíveis PD da SLT4 os compostos 3,5-diiodotironina (T2), ácido 3,3',5,5'-tetraiodotiroacético (TTAA4), ácido 3,3',5-triiodotiroacético (TTAA3) e ácido 3,5-diiodotiroacético (TTAA2). Como resultado, não foram encontrados T2, TTAA2 nem TTAA3 em nenhum dos comprimidos, uma pequena quantidade de TTAA4 foi encontrada em três comprimidos e T3 foi encontrada em um comprimido (Kannamkumarath *et al.*, 2004).

Mais recentemente em 2021 foi realizada a detecção e caracterização de uma impureza desconhecida encontrada em solução oral de SLT4 após 10 meses de expiração do prazo de validade. O método HPLC utilizado foi uma modificação do método USP, e um novo método LC-MS foi desenvolvido. É destacado que o metilparabeno absorve no UV, então é importante que o método cromatográfico tenha resolução adequada entre o metilparabeno, a T4 e substâncias relacionadas, o que não é possível com o método de impurezas USP. A impureza desconhecida eluiu entre o metilparabeno e a T3. Ao final, os autores concluem que esta impureza de m/z 257 é um derivado de ácido acético desiodado e desaminado da LT4, e uma possível rota de degradação foi proposta. A quantidade desta impureza foi 0,5% da solução oral de SLT4 (Sreeramoju, Digenis and May, 2021).

4. CAPÍTULO I: CARACTERIZAÇÃO DO INGREDIENTE FARMACÊUTICO ATIVO

4.1 Introdução

A caracterização de insumos farmacêuticos é parte do controle de qualidade de medicamentos. Esta é de extrema importância para garantir a segurança do produto final, pois através dela é possível garantir que o insumo adquirido contém o composto químico de interesse (Taylor and Chandrasekaran, 2018). No caso de IFA, a caracterização revela se a amostra analisada contém de fato o fármaco.

Para tal, diferentes metodologias podem ser utilizadas, e aqui foram escolhidas cinco diferentes técnicas. Com esta abordagem, os resultados obtidos de cada técnica podem ser combinados, gerando uma maior confiabilidade. As técnicas utilizadas foram Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Espectrometria de Massas (EM), Espectrofotometria na Região do Ultravioleta (UV), Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN) e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Portanto, o objetivo foi caracterizar o IFA de SLT4 obtido comercialmente com pureza declarada de 99,38% para posterior desenvolvimento da formulação líquida oral.

4.2 Caracterização do IFA de LT4

4.2.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Através da análise de um espectro na região do IV é possível visualizar as bandas características dos grupos funcionais e identificar substâncias presentes na amostra analisada. A análise de Espectroscopia de IV com transformada de Fourier (Bruker Optics, Ettingen, Alemanha) foi realizada na Faculdade de Odontologia, no Laboratório de Materiais Dentários da UFRGS. A sala teve temperatura controlada de 23°C e 60% de umidade relativa, e a amostra utilizada foi 20mg do IFA de SLT4. O espectrômetro é equipado com dispositivo de refletância total atenuada (ATR) e um cristal de diamante horizontal. Foi realizada varredura entre 4000 e 400 cm^{1-}, e o software que processou os espectros foi o Opus 6.5 (Bruker Optics, Ettingen, Alemanha).

Como resultado, foi gerado um espectro (Figura 3) onde é possível visualizar as bandas características dos grupos funcionais da molécula de SLT4 (Figura 2).

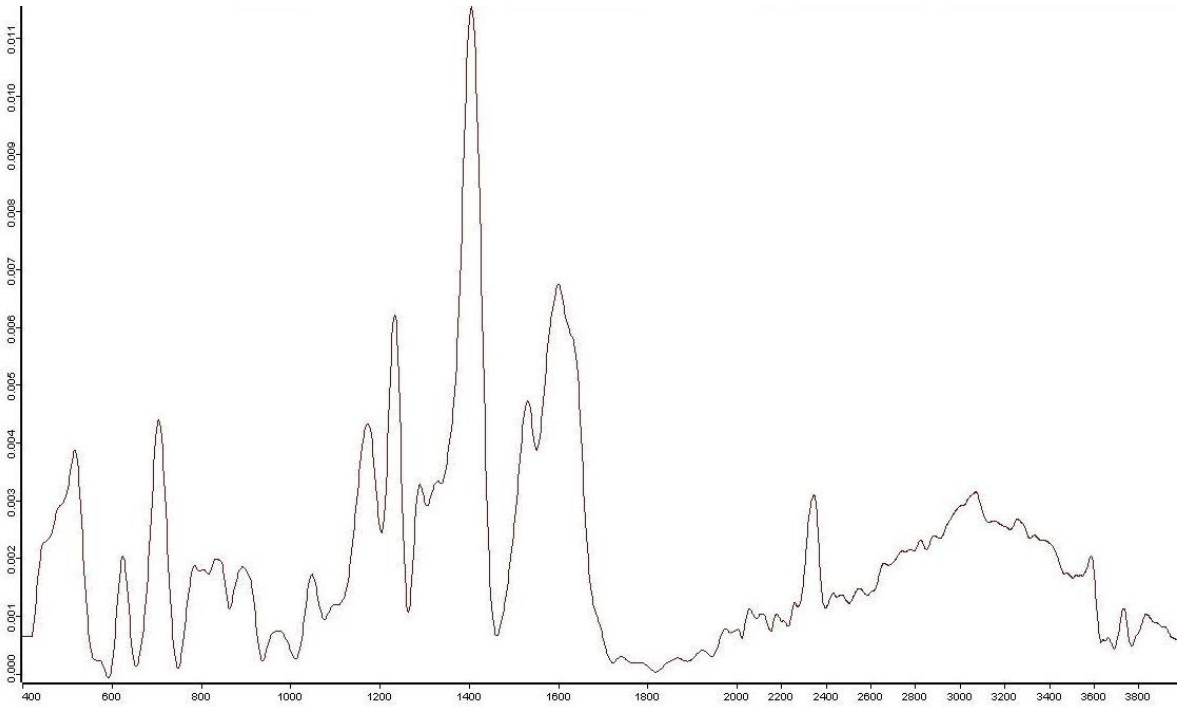


Figura 3 - Espectro gerado por FTIR para o IFA de SLT4.

Na região inicial de 400 cm aparece o grupamento iodeto, logo após entre 600 e 800 aparece o anel 1,3 meta dissubstituído, depois entre 1000 e 1200 as aminas alifáticas e ésteres C-O. O pico mais alto entre 1200 e 1400 representa os grupamentos nitro, seguido por anel aromático e grupamentos C=O entre 1400 e 1700. Ao final, os grupamentos ácidos ligados a OH aparecem entre 2200 e 3600. Esses resultados estão em concordância com publicações da literatura onde foram encontradas ligações C-I entre 300 e 500 cm, C-H em 900 e 1248, C-C e C=C em 1409, C=O em 1808, C-H em 2921, N-H em 3074 e O-H entre 3400 e 3600 (Pavia, Lampman and Kriz, 2001; Rizzon *et al.*, 2020).

4.2.2 Espectrometria de Massas (EM)

A EM é uma técnica analítica utilizada para quantificar materiais conhecidos, identificar compostos desconhecidos em uma amostra, e elucidar a estrutura e propriedades químicas de diferentes moléculas. O processo envolve a conversão da amostra em íons gasosos, com ou sem fragmentação, que são então caracterizados pela sua relação massa/carga (m/z) e abundância relativa. A EM depende de reações

químicas na fase gasosa onde as moléculas da amostra formam espécies iônicas e neutras (Kaklamanos, Aprea and Theodoridis, 2020). Esta foi realizada em parceria com a Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSPA), em espectrômetro de massas micrOTOF-Q III (Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

As análises foram conduzidas em modo de ionização positivo usando uma voltagem capilar de 4.5 kV. Os parâmetros do ESI-Q-TOF foram temperatura do gás de secagem 200°C, fluxo de gás de secagem 4 L/min e pressão do gás de nebulização 0,4 bar. O nitrogênio foi usado como gás de secagem e de nebulização. A detecção foi feita considerando uma faixa de massa de 20–1000 m/z adquiridas com uma taxa de espectro de 1,00 Hz. O espectrômetro foi calibrado utilizando uma solução de formato de sódio (10 mM) em modo positivo, e os dados de massa foram processados usando o software Data Analysis 4.3 (Bruker Daltonics, Bremen, Germany).

Para o preparo de amostra, foi pesado 500µg do IFA de SLT4 e dissolvido em 10mL de metanol, gerando uma solução de 50µg/mL. Esta foi filtrada em filtro Whatman Uniflo 0,45µm PVDF e transportada para análise. A relação massa carga relatada na literatura para LT4 é 777 m/z. O resultado obtido está ilustrado na Figura 4.

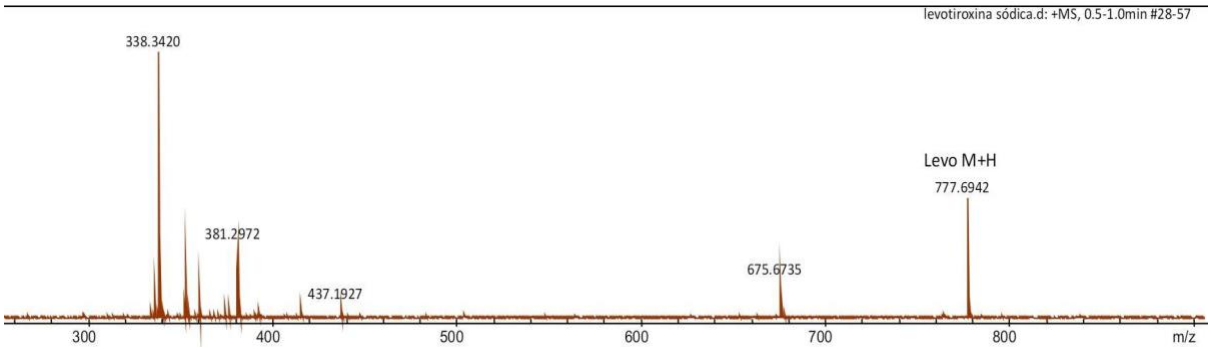


Figura 4 - Espectro gerado por MS para o IFA de SLT4.

O espectro obtido (Figura 4) mostra o íon molecular a 777,6942 m/z, o que corresponde com a massa molar da levotiroxina e com os dados da literatura (Goto-Inoue *et al.*, 2018; MoNA, 2025).

4.2.3 Espectrofotometria na Região do Ultravioleta (UV)

A técnica de espectrofotometria no UV funciona com a habilidade das moléculas de absorver energia luminosa em comprimentos de onda específicos, medindo a quantidade de luz absorvida, que é proporcional à concentração de moléculas ou átomos absorventes na amostra (Machioliet al., 2023). Sabendo-se que grande parte dos fármacos absorve energia na região do UV, a espectrofotometria na região do UV/visível é amplamente utilizada no controle de qualidade de medicamentos.

Foi realizada a análise através de uma varredura na faixa de 200 a 400 nm utilizando cubetas de quartzo de 10 mm de caminho óptico. O equipamento utilizado foi o espectrofotômetro Shimadzu modelo 1800. Foram preparadas soluções a 50µg/mL em água destilada e pH 6 (ajustada com hidróxido de sódio), tanto para o IFA de SLT4 quanto para o padrão USP de levotiroxina (PT4). Posteriormente, foram realizadas leituras em triplicata no espectrofotômetro, e os espectros foram comparados. O máximo de absorção da SLT4 é em 225 nm, e os resultados foram processados com o Software UVProbe 2.42. Os espectros gerados por UV estão ilustrados na Figura 5.

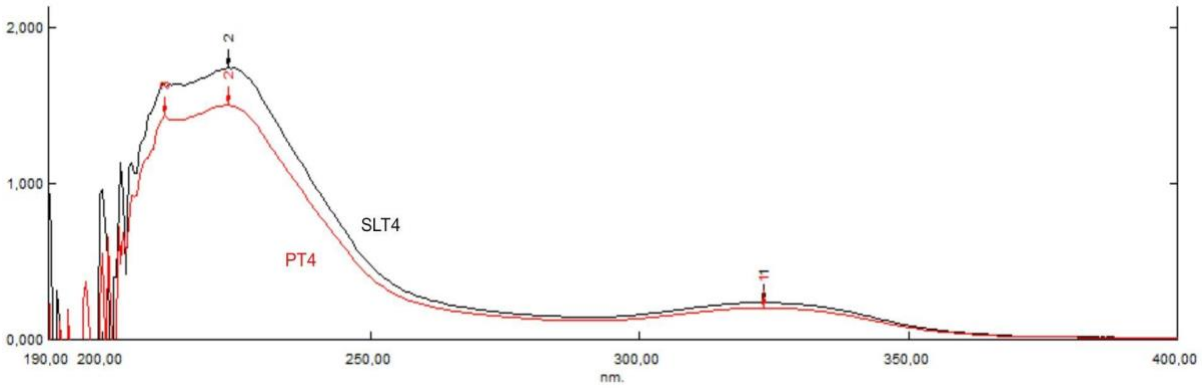


Figura 5 - Espectros gerados por UV para o IFA de SLT4 e o PT4 sobrepostos.

As análises do IFA resultaram em espectros muito similares aos espectros do PT4 (Figura 5), com absorção máxima em 225 nm, o que corresponde também aos dados encontrados na literatura (Gregorini, Ruiz and Volonté, 2013; Japanese Pharmacopoeia, 2022).

4.2.4 Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

A espectroscopia de ressonância magnética nuclear fornece informações bastante detalhadas da estrutura das moléculas e é um método útil para a caracterização do produto desejado e de impurezas associadas. Foi realizada a análise básica estrutural da substância por RMN ^{1}H e ^{13}C em equipamento Agilent 500MHz com campo magnético de 11,74 Tesla do Instituto de Química, localizado no Campus do Vale da UFRGS. Para a amostra, foram pesados 20 mg do IFA de SLT4, dissolvido em 2 mL de DMSO deuterado e transportado sob refrigeração em tubo de RMN. A análise a 400MHz e 101 MHz permitiu a verificação e a atribuição dos hidrogênios e dos carbonos, respectivamente, presentes na molécula de levotiroxina sódica.

Como resultado, a análise de ^{1}H (400 MHz, DMSO) gerou sinais em 7,79; 6,96; 3,12; 3,11; 3,09; 3,08; 2,79; 2,76; 2,75 e 2,73 ppm. No total, 10 hidrogênios foram encontrados. A Figura 6 mostra o espectro obtido.

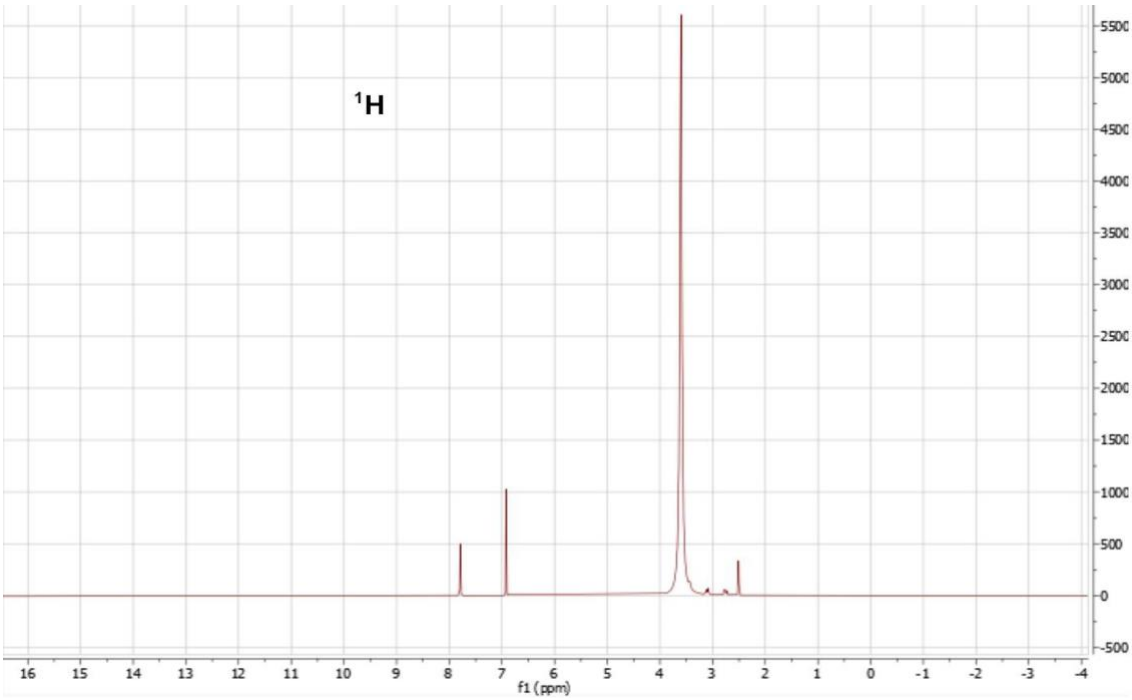


Figura 6 - Espectro de ^{1}H obtido por RMN para o IFA de SLT4.

Já a análise de ^{13}C (101 MHz, DMSO) resultou em sinais em 171,72; 160,54; 152,81; 143,42; 141,21; 139,81; 125,09; 92,51; 88,59; 56,04; 40,45; 39,83; 39,62; 39,20 e 36,48 ppm. No total, 15 carbonos foram encontrados. A Figura 7 mostra o espectro obtido.

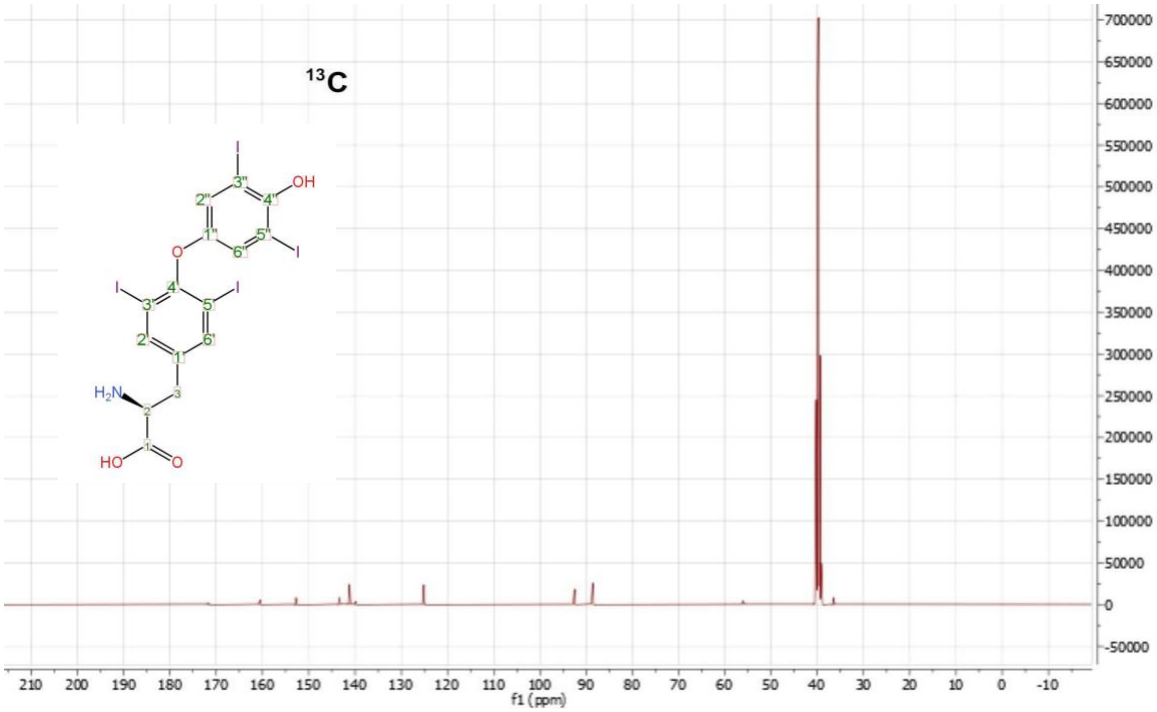


Figura 7 - Espectro de ^{13}C obtido por RMN para o IFA de SLT4.

Tanto os 15 carbonos quanto os 10 hidrogênios encontrados pelas análises de RMN correspondem à fórmula molecular da SLT4 e aos dados da literatura (Tong *et al.*, 2007; ChemicalBook, 2025). Um estudo realizado em 1996 já detalhou os sinais de carbonos e hidrogênios encontrados na tiroxina por RMN (Duggan, 1996).

4.2.5 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Através da cromatografia líquida, que realiza a separação de substâncias químicas, pode-se também caracterizar um IFA ao comparar seu cromatograma com um padrão de referência. Para a caracterização do IFA de SLT4 foi empregada também esta metodologia, em cromatógrafo Shimadzu do próprio Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico (LCQFar). As amostras de SLT4 foram preparadas a 15µg/mL em fase móvel composta por água + ácido fosfórico : acetonitrila (75:25) e foram injetados 50µL a um fluxo de 1,0 mL/min em uma coluna nitrila Inertsil CN-3 (5µm, 4,6mm × 150mm,) a 25 °C.

Os cromatogramas obtidos para a SLT4 foram comparados com os obtidos para o PT4 e sobrepostos. Estes estão representados na Figura 8.

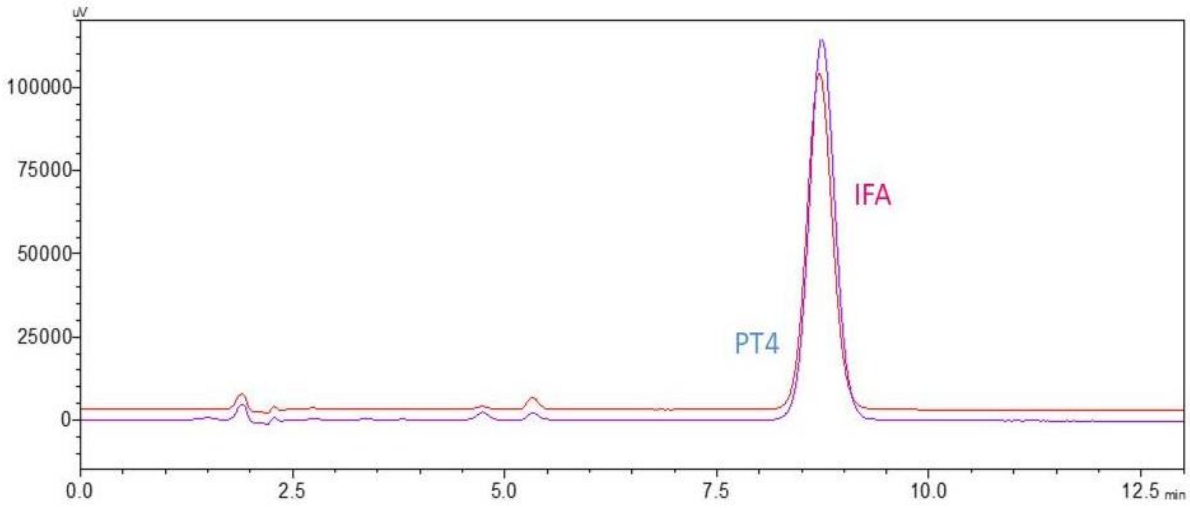


Figura 8 - Cromatograma por CLAE para o IFA de SLT4 e para o PT4.

Como resultado, os tempos de retenção do pico da LT4 foram muito similares para o IFA de SLT4 (8,702min) e para o PT4 (8,732min), com fator de cauda similar (1,046 PT4 e 1,059 IFA), e valor de pratos teóricos acima de 3.700. A partir destes, pode-se considerar que o IFA e o PT4 interagem com a coluna cromatográfica da mesma maneira, indicando que se trata da mesma substância.

4.3 Discussão e conclusões gerais

Dentre as cinco metodologias, as mais sofisticadas são a RMN e FTIR, pois geram mais informações sobre a estrutura da molécula de SLT4. Porém, a CLAE e a UV permitiram comparar a amostra de IFA com o padrão de T4, o que também gera um resultado muito confiável.

Baseado nos dados obtidos, foi possível concluir que o IFA analisado é de fato a levotiroxina sódica, e está adequado dentro dos parâmetros de qualidade para ser utilizado no desenvolvimento da formulação líquida oral.

5. CAPÍTULO II: DESENVOLVIMENTO DA FORMULAÇÃO, VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO E ESTUDO DE ESTABILIDADE

5.1 Introdução

Sabe-se que as crianças apresentam características farmacocinéticas e farmacodinâmicas que diferem dos adultos, e por isso a resposta terapêutica à medicamentos também é diferente. Além disso, também é observada uma falta de informações científicas especificamente para pediatria, devido à carência de estudos clínicos nesta população. Estes fatores levam a 50 a 90% de ausência de medicamentos destinados à pacientes pediátricos, tornando-se frequente a prescrição de medicamentos *off-label* e derivações farmacêuticas, principalmente em ambiente hospitalar (Balsan, Gobetti and Garcia, 2022).

Portanto, considerando a problemática de medicamentos específicos para uso pediátrico e a falta de formas farmacêuticas adequadas, torna-se urgente desenvolver formulações adaptadas ao uso pediátrico. Em vista disso, este capítulo consta sobre o desenvolvimento da formulação de SLT4, bem como seu estudo de estabilidade, a validação do método analítico indicativo de estabilidade para doseamento de SLT4 e a investigação de produtos de degradação por LC-MS.

5.2 Artigo científico

O tópico 5.2, cujo conteúdo, no texto completo da Dissertação, corresponde ao intervalo entre as páginas 47 e 67, foi suprimido por tratar-se de manuscrito submetido para publicação em periódico científico. O artigo versa sobre o desenvolvimento de uma solução oral contendo levotiroxina sódica para uso pediátrico, o estudo de estabilidade conduzido, o método analítico validado e a investigação dos produtos de degradação formados.

6. DISCUSSÃO GERAL

Foi desenvolvida uma solução oral de levotiroxina sódica na concentração de 30 µg/mL, visando facilitar a administração das doses e por ser considerada uma concentração aceitável para aplicação na prática clínica. Esta concentração foi escolhida considerando as doses utilizadas pelo HCPA. Para tal, foram testados diversos insumos em variadas concentrações. Como conservantes, o metilparabeno e o sorbato de potássio foram testados nas concentrações de 0,05% e 0,1%. Para facilitar a solubilização da SLT4, foram testados glicerina e propilenoglicol como co-solventes. As concentrações de glicerina testadas foram crescentes de 0,05%, 1%, 1,5%, 5%, 10%, 15%, 20%, 30% até atingir 35%, que foi escolhida como a melhor. Também foi testado aumentar a viscosidade da formulação através da carboximetilcelulose (0,1%, 0,2% e 0,35%) e da goma xantana (0,05%), porém nenhuma delas apresentou aspecto melhor ou maior solubilidade da SLT4, por isso foram descartadas da formulação.

A presença de microrganismos no medicamento caracterizando contaminação microbiana pode alterar suas propriedades físico-químicas, e representa um risco de infecção para o paciente. Formas farmacêuticas de uso oral, como a formulação de levotiroxina sódica desenvolvida, não são obrigatoriamente estéreis, mas devem estar sujeitas ao controle de contaminação microbiana, devido ao fato de que uma carga microbiana aumentada compromete a estabilidade do medicamento (Brasil, 2019). Portanto, o a estabilidade microbiológica foi analisada conforme o preconizado na Farmacopeia Brasileira para Ensaios Microbiológicos. Para verificar o crescimento de bactérias ao longo do tempo, foi empregada a contagem dos microrganismos pelo método de contagem em placa por superfície.

A formulação desenvolvida oferece vantagens quando comparada às formulações líquidas relatadas na literatura. Primeiramente, a não utilização de etanol para dissolver o IFA permite que a solução seja administrada com segurança para crianças. Além disso, a concentração de glicerina utilizada está abaixo do limite que causa efeitos osmóticos, diferente de outras formulações que utilizam até 85% de glicerina. Não foram realizados testes de palatabilidade, porém a solução oral desenvolvida não apresentou odor nem sabor nem durante o desenvolvimento nem no estudo de estabilidade, já que o IFA está presente em baixíssima massa e os excipientes não são relatados como amargos ou não-palatáveis. Portanto não foi necessário adicionar flavorizantes ou edulcorantes.

Uma vantagem importante a ser destacada é o prazo de validade que atingiu 63 dias, servindo como referência na rotina hospitalar, e potencialmente substituindo a referência anterior de apenas 8 dias de estabilidade em geladeira. Outra vantagem é que quando armazenada em sachê, a formulação mantém-se estável e protegida da luz e do calor, e permite que doses unitárias para cada paciente sejam envasadas, o que facilita a rotina hospitalar e garante maior segurança ao paciente. Da mesma forma, a rastreabilidade que o sachê permite através da impressão de um *QR Code* no rótulo é um grande avanço hospitalar. Nesse sentido, através da parceria com os farmacêuticos da Farmácia Semi-Industrial, o Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) será beneficiado com a aplicação dos resultados obtidos na rotina tão logo se tornem uma referência publicada. Deve ser ressaltado também o impacto social que a formulação desenvolvida trará para os pacientes, caso outros hospitais do Brasil adotem como prática a manipulação desta formulação.

7. CONCLUSÃO

A partir do presente trabalho é possível concluir que:

- O IFA de SLT4 foi caracterizado pelas técnicas de IV, UV, RMN, EM e CLAE, sendo adequado para o desenvolvimento da formulação;
- Uma solução oral de SLT4 foi desenvolvida utilizando excipientes seguros para uso pediátrico, apresentou teor, aspecto, pH e características organolépticas adequadas.
- O método analítico desenvolvido por CLAE foi validado e pode ser aplicado para doseamento de levotiroxina sódica em formulações líquidas.
- A formulação é estável por 63 dias quando armazenada em geladeira e temperatura ambiente, mas recomenda-se armazenar em geladeira para não sofrer variações ambientais.
- Esta solução oral representa um avanço para o tratamento do hipotireoidismo na rotina hospitalar, principalmente por oferecer uma melhor opção terapêutica a pacientes pediátricos, adultos incapazes de engolir e àqueles utilizando sonda nasogástrica.
- As embalagens sachê e frasco de vidro âmbar foram comparadas no estudo de estabilidade, e não foram estatisticamente diferentes nas temperaturas ambiente e geladeira. Porém, o sachê oferece vantagens na rotina hospitalar.
- As análises de UPLC-MS evidenciaram que a levotiroxina sódica é instável à luz e a longa exposição ao calor, já que seis produtos de degradação foram encontrados e suas estruturas foram propostas.

8. REFERÊNCIAS

Abdallah, S. and Mohamed, I. (2016) “Factor Affecting Photo and Thermal Stability of Levothyroxine Sodium,” *British Journal of Pharmaceutical Research*, 10(2), pp. 1–11. Available at: https://doi.org/10.9734/bjpr/2016/23410.

Agrawal, A. *et al.* (2024) “Paediatric excipient risk assessment (PERA) tool and application for selecting appropriate excipients for paediatric dosage forms – Part 2,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 203. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2024.114447.

Almurisi, S.H. *et al.* (2022) “Stability of Paracetamol Instant Jelly for Reconstitution: Impact of Packaging, Temperature and Humidity,” *Gels*, 8(3). Available at: https://doi.org/10.3390/gels8030144.

Anfarmag (2024) *Aspectos farmacotécnicos da preparação oral líquida pediátrica*.

Antero, I.H.A. *et al.* (2024) “Tireoidite de Hashimoto: aspectos fisiopatológicos, diagnósticos, terapêuticos e impacto na qualidade de vida.,” *Revista FT*, 28(133). Available at: https://doi.org/10.5281/zenodo.10905989.

Asik, M. *et al.* (2014) “Decrease in TSH levels after lactose restriction in Hashimoto’s thyroiditis patients with lactose intolerance,” *Endocrine*, 46(2), pp. 279–284. Available at: https://doi.org/10.1007/s12020-013-0065-1.

Balsan, M.E., Gobetti, C. and Garcia, C.V. (2022) “Medicamentos off-label e não licenciados no âmbito pediátrico: uma revisão descritiva dos últimos dez anos,” *Clinical & Biomedical Research* [Preprint]. Available at: https://doi.org/10.22491/2357-9730.125057.

Bar-Shalom, D. and Rose, K. (2014) *Pediatric Formulations*. Advances in the Pharmaceutical Sciences Series. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4899-8011-3.

Bassani, F. *et al.* (2022) “Ecodesign approach for pharmaceutical packaging based on Life Cycle Assessment,” *Science of the Total Environment*, 816. Available at: https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151565.

Benvenga, S., Di Bari, F. and Vita, R. (2017) “Undertreated hypothyroidism due to calcium or iron supplementation corrected by oral liquid levothyroxine,” *Endocrine*, 56(1), pp. 138–145. Available at: https://doi.org/10.1007/s12020-017-1244-2.

Benvenga, S., Papi, G. and Antonelli, A. (2017) “Refractory hypothyroidism due to improper storage of levothyroxine tablets,” *Frontiers in Endocrinology*, 8(JUL). Available at: https://doi.org/10.3389/fendo.2017.00155.

Bernareggi, A. *et al.* (2013) “Oral liquid formulation of levothyroxine is stable in breakfast beverages and may improve thyroid patient compliance,” *Pharmaceutics*, 5(4), pp. 621–633. Available at: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics5040621.

Bobillot, M. *et al.* (2024) “Potentially Harmful Excipients: State of the Art for Oral Liquid Forms Used in Neonatology and Pediatrics Units,” *Pharmaceutics*, 16(1). Available at: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16010119.

Boulton (1996) *Stability of an extemporaneously compounded levothyroxine sodium oral liquid*. Available at: https://academic.oup.com/ajhp/article-abstract/53/10/1157/5094131.

Brasil (2012) *Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira*. Available at: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/formulario-nacional/arquivos/8065json-file-1 (Accessed: September 7, 2025).

Brasil (2015) *Guia para Obtenção do Perfil de Degradação, e Identificação e Qualificação de Produtos de Degradação em Medicamentos*. Available at: http://formsus.datasus.gov.br/site/formulario.php?id_aplicacao=23848.

Brasil (2017) *Guia para Tratamento Estatístico da Validação Analítica*. Available at: http://formsus.datasus.gov.br/site/formulario.php?id_aplicacao=3.

Brasil (2019a) *Guia de Estudos de Estabilidade*. Available at: https://pesquisa.anvisa.gov.br/index.php/15455?lang=pt-BR.

Brasil (2019b) *Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n° 318 de 6 de Novembro de 2019*.

Brasil (2020) *Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas do Hipotireoidismo Congênito*. Available at: https://www.gov.br/conitec/pt-br/midias/consultas/relatorios/2020/20201103_pcdt_hipotireoidismo_cp_57.pdf (Accessed: September 7, 2025).

Brasil (2022) *Informação e conscientização: Ministério da Saúde alerta sobre alterações na tireoide*. Available at: https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2022/maio/informacao-e-conscientizacao-ministerio-da-saude-alerta-sobre-alteracoes-na-tireoide (Accessed: September 7, 2025).

Brasil (2024a) *Farmacopeia Brasileira*. 7th ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

Brasil (2024b) *Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME)*. Ministério da Saúde. Available at: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/relacao_nacional_medicamentos_2024.pdf.

Brasil (2025a) *Consultas Medicamentos*, *Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa*. Available at: https://consultas.anvisa.gov.br/#/medicamentos/q/?substancia=5905 (Accessed: September 7, 2025).

Brasil (2025b) *Guia para realização dos estudos de degradação forçada em medicamentos e para a notificação, identificação e qualificação de produtos de degradação*.

British Pharmacopoeia (2013) “Levothyroxine sodium,” in. British Pharmacopoeia Commission.

Cappelli, C. *et al.* (2016) “A double-blind placebo-controlled trial of liquid thyroxine ingested at breakfast: Results of the TICO study,” *Thyroid*, 26(2), pp. 197–202. Available at: https://doi.org/10.1089/thy.2015.0422.

Cassio, A. *et al.* (2013) “Comparison between liquid and tablet formulations of levothyroxine in the initial treatment of congenital hypothyroidism,” *Journal of Pediatrics*, 162(6). Available at: https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2012.11.070.

Cellini, M. *et al.* (2014) “Systematic appraisal of lactose intolerance as cause of increased need for oral thyroxine,” *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(8). Available at: https://doi.org/10.1210/jc.2014-1217.

ChemicalBook (2025) *Levothyroxine sodium NMR*. Available at: https://www.chemicalbook.com/SpectrumEN_CB4106276_NMR.htm (Accessed: September 14, 2025).

Chen Wenyi *et al.* (2024) “Orally disintegrating microplatelet of levothyroxine sodium and preparation method thereo.” Available at: https://patents.google.com/patent/CN119185221A (Accessed: November 4, 2025).

Collier, J.W. *et al.* (2011) “Development and application of a validated HPLC method for the analysis of dissolution samples of levothyroxine sodium drug products,” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 54(3), pp. 433–438. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.08.025.

Cuzzolin, L. (2018) “Neonates exposed to excipients:concern about safety,” *Journal of Pediatric and Neonatal Individualized Medicine*. Hygeia Press di Corridori Marinella, pp. 1–10. Available at: https://doi.org/10.7363/070112.

DeMeuse, M.T. (2011) *Biaxial Stretching of Film*. Woodhead Publishing. Available at: https://doi.org/https://doi.org/10.1533/9780857092953.1.3.

DrugBank (2025) *Levothyroxine*. Available at: https://go.drugbank.com/drugs/DB00451# (Accessed: August 24, 2025).

Ducharme, M. *et al.* (2022) “A Novel Levothyroxine Solution Results in Similar Bioavailability Whether Taken 30 or Just 15 Minutes before a High-Fat High-Calorie Meal,” *Thyroid*, 32(8), pp. 897–904. Available at: https://doi.org/10.1089/thy.2021.0604.

Duggan, B. M.; Craik, D. J. (1996) “1H and 13C NMR Relaxation Studies of Molecular Dynamics of the Thyroid Hormones Thyroxine, 3,5,3′-Triiodothyronine, and 3,5-Diiodothyronine”. Journal of Medicinal Chemistry, 39, pp. 4007-4016.

Dutt, R. *et al.* (2020) “Development and Validation of UPLC-MS/MS Method for Rapid Simultaneous Determination of Levothyroxine and Liothyronine in Human Serum,” *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(3-s), pp. 176–181. Available at: https://doi.org/10.22270/jddt.v10i3-s.4189.

EMA (2013) *Guideline on pharmaceutical development of medicines for paediatric use*. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/pharmaceutical-development-medicines-paediatric-use-scientific-guideline (Accessed: October 6, 2025).

EMA (2015) *Reflection paper on the use of methyl-and propylparaben as excipients in human medicinal products for oral use*. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/use-methyl-propylparaben-excipients-human-medicinal-products-oral-use-scientific-guideline (Accessed: October 6, 2025).

EuPFI (2017) *STEP database*, *European Paediatric Formulation Initiative*. Available at: https://step-db.ucl.ac.uk/eupfi/appDirectLink.do?appFlag=login (Accessed: September 11, 2025).

Frenette, A.J. *et al.* (2011) “Stability of levothyroxine injection in glass, polyvinyl chloride, and polyolefin containers,” *American Journal of Health-System Pharmacy*, 68(18), pp. 1723–1728. Available at: https://doi.org/10.2146/ajhp100599.

Garber, J.R. *et al.* (2012) “Clinical Practice Guidelines for Hypothyroidism in Adults: Cosponsored by the American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association,” *Endocr Pract*, 6(18), pp. 989–1028. Available at: https://doi.org/10.4158/EP12280.GL.

Geronimo, A.A., Schmidt, R.B. and Salvi, J.O. (2018) “Pharmacological aspects of levothyroxin sodium: a brief review,” *Brazilian Journal of Surgery and Clinical Research*, 23(2), pp. 128–134.

Gietka-Czernel, M. *et al.* (2020) “Expert opinion on liquid L-thyroxine usage in hypothyroid patients and new liquid thyroxine formulation — Tirosint SOL,” *Endokrynologia Polska*. Via Medica, pp. 441–465. Available at: https://doi.org/10.5603/EP.A2020.0065.

Glass, B.D. and Haywood, A. (2006) “Stability considerations in liquid dosage forms extemporaneously prepared from commercially available products,” *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 9(3), pp. 398–426.

Goto-Inoue, N. *et al.* (2018) “Utilizing mass spectrometry imaging to map the thyroid hormones triiodothyronine and thyroxine in Xenopus tropicalis tadpoles,” *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(4), pp. 1333–1340. Available at: https://doi.org/10.1007/s00216-017-0775-y.

Gregorini, A., Ruiz, M.E. and Volonté, M.G. (2013) “A derivative UV spectrophotometric method for the determination of levothyroxine sodium in tablets,” *Journal of Analytical Chemistry*, 68(6), pp. 510–515. Available at: https://doi.org/10.1134/S1061934813060075.

Hamad, M.L., Engen, W. and Morris, K.R. (2015) “Impact of hydration state and molecular oxygen on the chemical stability of levothyroxine sodium,” *Pharmaceutical Development and Technology*, 20(3), pp. 314–319. Available at: https://doi.org/10.3109/10837450.2013.862635.

iBtek (2024) “Manual MK5.”

ICH (2023) *Guideline on Validation of Analytical Procedures Q2(R2)*. Available at: https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures-scientific-guideline (Accessed: August 24, 2025).

Iglesias, P. (2024) “New formulations of levothyroxine in the treatment of hypothyroidism,” *Endocrinologia, Diabetes y Nutricion*, 71(3), pp. 93–95. Available at: https://doi.org/10.1016/j.endinu.2023.11.001.

Japanese Pharmacopoeia (2022) *Ultraviolet-visible Reference Spectra*. Available at: https://www.mhlw.go.jp/content/11120000/000904453.pdf (Accessed: September 14, 2025).

Jonklaas, J. *et al.* (2014) “Guidelines for the treatment of hypothyroidism: Prepared by the American thyroid association task force on thyroid hormone replacement,” *Thyroid*, 24(12), pp. 1670–1751. Available at: https://doi.org/10.1089/thy.2014.0028.

Kaklamanos, G., Aprea, E. and Theodoridis, G. (2020) “Mass spectrometry: principles and instrumentation,” in *Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications, Second Edition*. Elsevier, pp. 525–552. Available at: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813266-1.00011-5.

Kannamkumarath, S.S. *et al.* (2004) “Determination of levothyroxine and its degradation products in pharmaceutical tablets by HPLC-UV-ICP-MS,” *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 19(1), pp. 107–113. Available at: https://doi.org/10.1039/b307970h.

Kazemifard, A.G., Moore, D.E. and Aghazadeh, A. (2001) “Identification and quantitation of sodium-thyroxine and its degradation products by LC using electrochemical and MS detection,” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25, pp. 697–711. Available at: www.elsevier.com/locate/jpba.

Klein, I. and Ojamaa, K. (2001) “Thyroid hormone and the cardiovascular system,” *N Engl J Med*, 7(344). Available at: https://doi.org/10.1056/NEJM200102153440707.

Liu, H. *et al.* (2023) “Levothyroxine: Conventional and Novel Drug Delivery Formulations,” *Endocrine Reviews*, 44(3), pp. 393–416. Available at: https://doi.org/10.1210/endrev/bnac030.

Longo, C. *et al.* (2011) “Degradation study of polypropylene (PP) and Bioriented polypropylene (BOPP) in the environment,” *Materials Research*, 14(4), pp. 442–448. Available at: https://doi.org/10.1590/S1516-14392011005000080.

Machioli, L.F. *et al.* (2023) “Development and validation of a new analytical method based on UV-visible spectroscopy for quantification of ceftaroline fosamil in powder for injection,” *Drug Analytical Research*, 7(1), pp. 46–51. Available at: https://doi.org/10.22456/2527-2616.133273.

Mansourian, M. *et al.* (2023) “Compatibility of Commonly Used Active Pharmaceutical Ingredients in a Ready-to-Use Oral Suspending Vehicle,” *Pharmaceutics*, 15(10). Available at: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15102388.

Meyer, L.M. *et al.* (2020) “Stability and consistency of compounded oral liquid levothyroxine formulations,” *Journal of the American Pharmacists Association*, 60(6), pp. e168–e172. Available at: https://doi.org/10.1016/j.japh.2020.05.014.

MoNA (2025) *MS Spectrum for Thyroxine*, *Mass Bank of North America*. Available at: https://mona.fiehnlab.ucdavis.edu/spectra/display/CCMSLIB00005720580 (Accessed: September 14, 2025).

Muñoz-Torres, M., Varsavsky, M. and Alonso, G. (2006) “Lactose Intolerance Revealed by Severe Resistance to Treatment with Levothyroxine,” *Thyroid*, 16(11). Available at: https://doi.org/10.1089/thy.2006.16.1171.

Neu, V. *et al.* (2013) “Investigation of reaction mechanisms of drug degradation in the solid state: A kinetic study implementing ultrahigh-performance liquid chromatography and high-resolution mass spectrometry for thermally stressed thyroxine,” *Analytical Chemistry*, 85(4), pp. 2385–2390. Available at: https://doi.org/10.1021/ac303404e.

Neu, V. *et al.* (2014) “Ultrahigh-performance liquid chromatography-ultraviolet absorbance detection-high-resolution-mass spectrometry combined with automated data processing for studying the kinetics of oxidative thermal degradation of thyroxine in the solid state,” *Journal of Chromatography A*, 1371, pp. 196–203. Available at: https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.071.

Opuspac (2025) *Embalagens Unidose Opuspac*. Available at: https://opuspac.com/materiais/embalagens-para-unitarizacao/ (Accessed: September 11, 2025).

Osmak-Tizon, L. *et al.* (2014) “Non-genomic actions of thyroid hormones: Molecular aspects,” *Archives of Cardiovascular Diseases*, 107(4), pp. 207–211. Available at: https://doi.org/10.1016/j.acvd.2014.02.001.

Patel, H. *et al.* (2003) “The effect of excipients on the stability of levothyroxine sodium pentahydrate tablets,” *International Journal of Pharmaceutics*, 264(1–2), pp. 35–43. Available at: https://doi.org/10.1016/S0378-5173(03)00387-9.

Pavia, D.L., Lampman, G.M. and Kriz, G.S. (2001) *Introduction to Spectroscopy*. 3rd ed.

PubChem (2025) *Levothyroxine Sodium*. Available at: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Levothyroxine-Sodium (Accessed: August 24, 2025).

Ribichini, D. *et al.* (2017) “Tablet and oral liquid L-thyroxine formulation in the treatment of naïve hypothyroid patients with Helicobacter pylori infection,” *Endocrine*, 57(3), pp. 394–401. Available at: https://doi.org/10.1007/s12020-016-1167-3.

Rizzon, R.V.K. *et al.* (2020) “Thyroxine: A Theoretical Study of the Vibrational and Electronic Properties,” *Quarks: Brazilian Electronic Journal of Physics, Chemistry and Materials Science*, 3(1), pp. 31–40. Available at: https://doi.org/10.34019/2674-9688.2020.v3.30941.

Rose, S.R. *et al.* (2023) “Guidance for the Clinician in Rendering Pediatric Care Congenital Hypothyroidism: Screening and Management,” *Pediatrics*, 151(1). Available at: https://doi.org/10.1542/peds.2022-060419.

Rouaz, K. *et al.* (2021) “Excipients in the paediatric population: A review,” *Pharmaceutics*. MDPI AG. Available at: https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030387.

Ruchała, M. *et al.* (2022) “Liquid levothyroxine improves thyroid control in patients with different hypothyroidism aetiology and variable adherence - case series and review,” *Endokrynologia Polska*, 73(5), pp. 893–902. Available at: https://doi.org/10.5603/EP.a2022.0078.

Salunke, S. *et al.* (2024) “Selecting appropriate excipients for paediatric dosage form − Paediatric excipients risk assessment (PERA) framework – Part 1,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 203. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2024.114458.

Sandoz (2017) *Levothyroxine Sodium tablet leaflet*. Available at: https://s3-us-west-2.amazonaws.com/drugbank/cite_this/attachments/files/000/004/633/original/FDA_Label_-_levothyroxine.pdf?1561401737 (Accessed: September 7, 2025).

Shah, R.B. *et al.* (2008) “Stability indicating validated HPLC method for quantification of levothyroxine with eight degradation peaks in the presence of excipients,” *International Journal of Pharmaceutics*, 360(1–2), pp. 77–82. Available at: https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.04.018.

Soares, J.V.S. *et al.* (2023) “Determinação de parâmetros de qualidade de embalagens metalizadas flexíveis para alimentos,” *Brazilian Journal of Development*, 9(3), pp. 9124–9138. Available at: https://doi.org/10.34117/bjdv9n3-018.

Sreeramoju, M.K., Digenis, G.A. and May, J. (2021) “Detection and Characterization of an Unknown Impurity in Levothyroxine Oral Solution Product: Implications for Formulation Development and Storage,” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 110(2), pp. 682–686. Available at: https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.09.054.

Stadalman, K.A. *et al.* (2009) *Stability of levothyroxine sodium 0.4 µg/mL in 0.9% sodium chloride injection*, *Progress in Transplantation*. Available at: http://www.bedfordlabs.com/products/inserts/LTR-PO4.pdf.

Stewart, S.A. *et al.* (2021) “HPLC method for levothyroxine quantification in long-acting drug delivery systems. Validation and evaluation of bovine serum albumin as levothyroxine stabilizer,” *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 203. Available at: https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114182.

Tang, R. *et al.* (2019) “Subclinical hypothyroidism and depression: A systematic review and meta-analysis,” *Frontiers in Endocrinology*. Frontiers Media S.A. Available at: https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00340.

Tanguay, M. *et al.* (2019) “Pharmacokinetics and Comparative Bioavailability of a Levothyroxine Sodium Oral Solution and Soft Capsule,” *Clinical Pharmacology in Drug Development*, 8(4), pp. 521–528. Available at: https://doi.org/10.1002/cpdd.608.

Taylor, L.C. and Chandrasekaran, T. (2018) “Key challenges in API charecterisation,” *International Pharmaceutical Industry*, 10(3), pp. 66–68.

Tong, Z. *et al.* (2007) “In vitro glucuronidation of thyroxine and triiodothyronine by liver microsomes and recombinant human UDP-glucuronosyltransferases,” *Drug Metabolism and Disposition*, 35(12), pp. 2203–2210. Available at: https://doi.org/10.1124/dmd.107.016972.

United States Pharmacopeia (2019) *Levothyroxine Sodium*.

United States Pharmacopeia (2020) *Levothyroxine Sodium Compounded Oral Suspension*. Available at: https://online.uspnf.com/uspnf/document/2_GUID-D0EAFE6A-2698-4886-8019-487A35C67E4D_10101_en-US?source=Search%20Results&highlight=levothyroxine (Accessed: November 4, 2025).

de Vasconcelos, J.C. and Hamer, E.R. (2023) “Indicadores de qualidade para otimização da qualidade em farmácia hospitalar,” *Revista de Pesquisa Cuidado é Fundamental Online*, 15, pp. 1–7. Available at: https://doi.org/10.9789/2175-5361.rpcfo.v15.12734.

Wang Jianchen *et al.* (2024) “Thyroxine sustained-release microsphere and preparation method thereof.” Available at: https://patents.google.com/patent/CN119185213A/ (Accessed: November 4, 2025).

Wassner, A.J. and Brown, R.S. (2013) “Hypothyroidism in the Newborn Period,” *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*, 20, pp. 449–454. Available at: https://doi.org/10.1097/01.med.0000433063.78799.c2.

WHO (2025) *The International Pharmacopoeia*. 12th ed. World Health Organization Department of Essential Medicines and Health Products. Available at: https://digicollections.net/phint/pdf/b/6.1.210.Levothyroxine-sodium-(Levothyroxinum-natricum).pdf (Accessed: October 5, 2025).

Wilfried Fischer and Daniel Bracher (1999) “Thyroxine/cyclodextrin complexes and pharmaceutical compositions containing the same.” Available at: https://patents.google.com/patent/US5856359A (Accessed: November 4, 2025).

Yaday, S.K. *et al.* (2022) “Sensitive UHPLC-MS_MS Technique for Monitoring Levothyroxine (T4) in Human Serum Against Endogenous Thyroxin Level,” *Current Chromatography* [Preprint]. Available at: https://doi.org/10.2174/2213240608666211206095408.

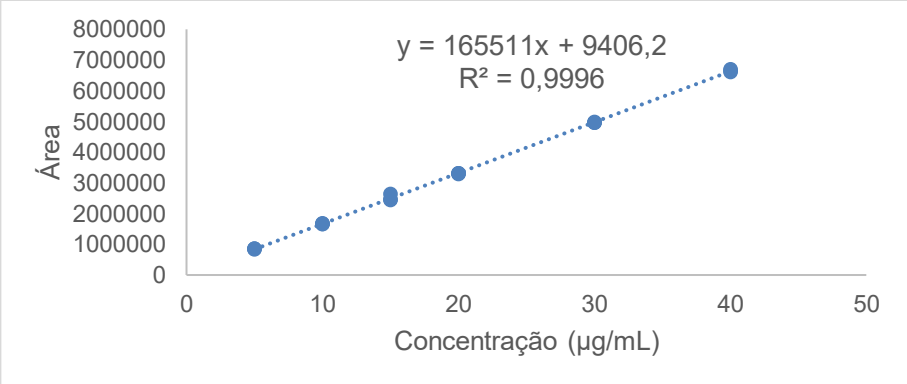
9. ANEXO I - Resultados da Validação Analítica

9.1 Seletividade

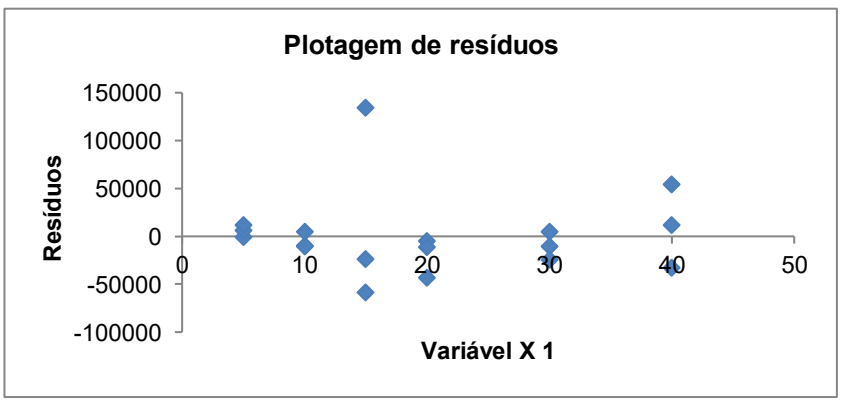
	Ácida	Alcalina	Oxidação	Fotólise		Temperatura
Condição	3mL HCl 0,1M por 30min	3mL NaOH 0,1M por 30min	H2O2 30% por 60min	UVA 365nm por 5h	UVC 254nm por 5h	40ºC por 14h
Teor de SLT4 (%)	86,71	39,26	72,77	19,80	67,45	92,39
Degradação (%)	8,65	56,26	22,59	73,17	25,52	2,64

9.2 Linearidade

Conc. (µg/mL)	Área media*
5	836360
5	843257
5	849144
10	1654608
10	1653843
10	1669382
15	2433560
15	2468330
15	2626800
20	3276756
20	3314881
20	3308919
30	4964704
30	4950222
30	4979385
40	6642012
40	6597006
40	6684162



LD = 0,25 µg/mL LQ = 0,76 µg/mL



Teste de Cochran
Ccalc= 0,1432554

Ccrít = 0,616

Ccalc < Ccrit =

homocedástico

9.3 Precisão

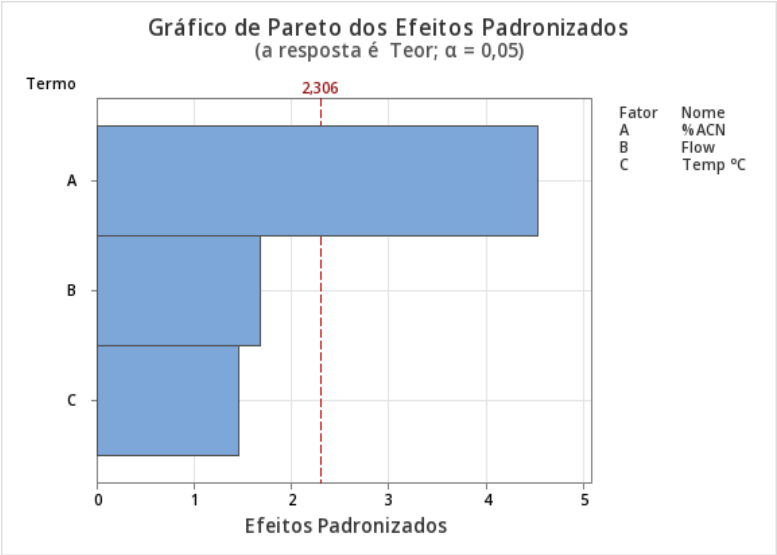
Dia 1 – Analista 1			
Amostra	Teor (%)	Teor médio (%)	DPR
P1	97,6440	96,0378	1,0411
P2	94,8703		
P3	95,7249		
P4	96,2734		
P5	95,2102		
P6	96,5039		
Dia 2 – Analista 2			
Amostra	Teor (%)	Teor médio (%)	DPR
P7	95,7083	96,6771	1,2238
P8	98,0958		
P9	94,9443		
P10	97,3806		
P11	97,4039		
P12	96,5299		
Inter dias			
Teor médio (%)		DPR	
96,3575		1,1379	

9.4 Exatidão

Nível	Concentração formulação (µg/mL)	Concentração PT4 adicionada (µg/mL)	Concentração final (µg/mL)	%Recuperação	Recuperação média (%)	DPR
R1	14,1611	5,0535	19,2286	100,28	101,97	1,4339
			19,3585	102,85		
			19,3546	102,77		
R2		10,1070	24,7190	104,46	102,94	1,2879
			24,4721	102,02		
			24,5053	102,35		
R3		15,1605	29,5361	101,42	100,96	0,4434
			29,4004	100,52		
			29,4664	100,96		
3 níveis					101,96	1,3007

9.5 Robustez

Condição	%ACN	Fluxo (mL/min)	TºC	Teor (%)
10	27	0,8	23	98,429
3	23	1,2	27	98,485
11	23	1,2	23	99,422
2	27	1,2	23	98,434
8	23	0,8	27	99,249
9	23	0,8	23	99,168
12	23	0,8	23	98,907
4	27	0,8	27	98,149
5	27	1,2	23	97,536
6	27	1,2	27	97,700
7	23	1,2	27	98,476
1	27	0,8	27	98,124
Teor médio				98,506
DPR				0,60
Normal	25	1,0	25	98,866



Análise da Variância					
Fonte	**GL**	**SQ (Aj.)**	**QM (Aj.)**	**Valor F**	**Valor-P**
Modelo	**3**	**2,9402**	**0,9801**	**8,47**	**0,007**
Linear	**3**	**2,9402**	**0,9801**	**8,47**	**0,007**
%ACN	1	2,3708	2,3708	20,49	0,002
Flow	1	0,3249	0,3249	2,81	0,132
Temp ºC	1	0,2445	0,2445	2,11	0,184
Erro	**8**	**0,9255**	**0,1157**		
Falta de ajuste	4	0,4883	0,1221	1,12	0,459
Erro Puro	4	0,4372	0,1093		
Total	11	3,8657			
Equação de Regressão	Teor= 98,5064 - 0,4445 %ACN - 0,1646 Flow -0,1427 Temp ºC				