

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

Faculdade de Farmácia

Disciplina de Trabalho de Conclusão de Curso de Farmácia

Desenvolvimento e validação de método por CCDAE para análise de ticagrelor em comprimidos

Andressa da Silva Bitencourt

Porto Alegre, dezembro de 2017.

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

Desenvolvimento e validação de método por CCDAE para análise de ticagrelor em comprimidos

Andressa da Silva Bitencourt

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

Orientadora: Prof^ª. Dra. Cássia Virginia Garcia

Coorientadora: Ma. Mariana Koetz

Porto Alegre, dezembro de 2017.

**“Só é útil o conhecimento
que nos torna melhores”**

Sócrates

AGRADECIMENTOS

À professora Cássia, pela orientação, dedicação, carinho, amizade, conselhos, exemplo profissional e por toda paciência que teve comigo não só durante a elaboração desse trabalho, mas ao longo dos mais de 4 anos que tive a honra em tê-la como orientadora e a qual devo grande parte do meu crescimento profissional.

À Mariana pela coorientação, por toda sua dedicação e transferência de conhecimento. Muito obrigada por todo carinho e paciência que teve comigo durante a elaboração desse trabalho.

Aos professores e a todos os amigos do laboratório de controle de qualidade pela convivência durante esses anos, em especial à Caren por sempre estar disposta a me ajudar.

Ao pessoal do laboratório de farmacognosia pelo acolhimento durante esses meses de experimentos, principalmente a professora Amélia por disponibilizar e me proporcionar à oportunidade de utilizar o equipamento para a realização desse estudo.

Aos grandes amigos que a vida me trouxe durante a trajetória acadêmica, em especial a Camila, Karina e Viviane que por muitas vezes me deram força para seguir.

À tia Lacir, pela estadia que me proporcionou. Muita gratidão pelo cuidado e todo carinho que tem comigo. Foi o meu suporte, fazendo papel de mãe quando meus pais não estavam por perto.

Ao Juliano por todo companheirismo, apoio e palavras positivas nos momentos de desânimo. Obrigada por sempre estar ao meu lado em todos os momentos. Que possamos compartilhar ainda muitas conquistas como essa.

À minha família, por compreenderem minha ausência em muitos encontros. Sou abençoada por tê-los em minha vida.

Aos meus pais, por sempre me apoiarem, acreditarem em mim e por todos os valores que me passaram e fazem ser a pessoa que sou hoje. Mesmo com a distância durante a semana, vocês sempre estiveram e vão estar presentes em todos os momentos, pois tudo que faço é pensando em vocês. Essa conquista é para vocês! Obrigada por serem exatamente como são.

Por fim, obrigada a Deus por colocar em minha trajetória as pessoas certas, as quais eu admiro e me fizeram crescer profissionalmente e humanamente ao longo desses anos.

APRESENTAÇÃO

Este artigo foi elaborado segundo as normas da Revista Química Nova apresentadas em anexo. Este contém os seguintes tópicos: Introdução, Parte Experimental, Resultados e Discussão, Conclusão e Referências. Os experimentos foram realizados no Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico e no Laboratório de Farmacognosia, situados na Faculdade de Farmácia- Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

SUMÁRIO

1. ARTIGO CIENTÍFICO.....	1
2. ANEXO.....	22

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO POR CCDAE PARA ANÁLISE DE TICAGRELOR EM COMPRIMIDOS

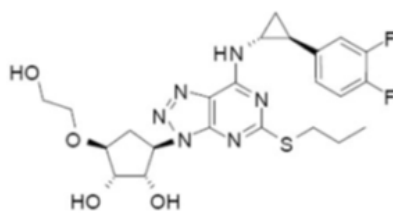
Andressa da Silva Bitencourt^{a,*}, Mariana Koetz^b, Cássia Virginia Garcia^a

^a Laboratório de Controle de Qualidade Farmacêutico, Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga 2752 Lab. 402, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

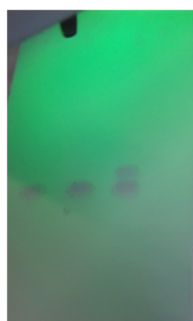
^b Laboratório de Farmacognosia, Faculdade de Farmácia, UFRGS, Av. Ipiranga 2752 Lab. 505 H, 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil.

*andressa.sb2@hotmail.com

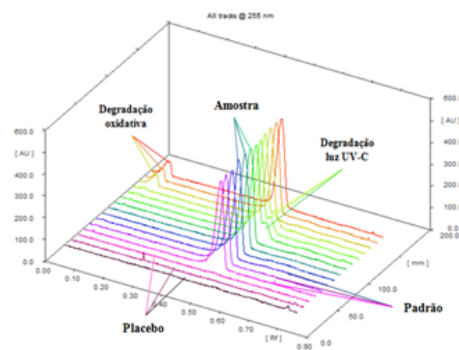
Graphical abstract



Chemical structure of ticagrelor



Standard, sample and possible degradation product



Ticagrelor densitogram by HPTLC

TITLE

Development and validation HPTLC method for analysis of ticagrelor in tablets

ABSTRACT

Ticagrelor is the first reversible inhibitor to P2Y₁₂ receptor, approved for FDA for the prevention of thrombotic events such as stroke, heart attack in patients with ACS or myocardial infarction. The objective of this study was to develop and validate a method for the analysis of Ticagrelor in tablets using HPTLC and compare it to HPLC. For the development of the method, Thin Layer Chromatography (TLC) aluminium plates precoated with silica gel 60 F254 (20 x 20 cm) were used as stationary phase and mobile phase was composed of acetone : toluene (6 : 4 v / v). The analysis was performed at a wavelength of 255 nm and the R_f was approximately 0.47. The drug was exposed to oxidative degradation and photodegradation, where it was possible to observe peaks indicating the presence of degradation products. The method proved to be specific, linear, precise and robust. However, accuracy results were not satisfactory under the condition studied. There was a statistical significant difference in the comparison between HPTLC and HPLC methods, which may be related to the recovery, particle size of the stationary phases and mode of detection of each method.

Keywords: ticagrelor, HPTLC, TLC, quality control.

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são a principal causa de morte e deficiências relacionadas às doenças não transmissíveis.¹ De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), houve uma estimativa de 17,5 milhões de mortes relacionadas a doenças cardiovasculares em 2012, o que representou 31% de todas as mortes em nível global. Desses óbitos, estima-se que 7,4 milhões ocorrem devido às doenças coronarianas.²

As plaquetas possuem papel importante na formação dos trombos, sendo a aterotrombose a principal causa da síndrome coronariana aguda. Além das plaquetas protegerem a integridade vascular, elas também desempenham um papel importante na hemostasia. O Infarto Agudo do Miocárdio é resultado da ruptura de uma placa aterosclerótica que provoca a formação de trombo dependente de plaquetas, levando a oclusão de uma artéria coronária.³

A base para o tratamento de pacientes com síndromes coronarianas agudas (ACS) são os fármacos antiplaquetários.⁴

O receptor P2Y₁₂ tem função central na formação e estabilização de trombo, sendo alvo de fármacos antitrombóticos como clopidogrel e prasugrel da classe das tienopiridinas, que são inibidores irreversíveis da P2Y₁₂.⁵

Ticagrelor, cuja molécula está ilustrada na Figura 1, é o primeiro inibidor reversível de P2Y₁₂ aprovado pela FDA para a prevenção de eventos trombóticos como acidente vascular cerebral, ataque cardíaco em pacientes com ACS ou infarto do miocárdio. Oferece inibição plaquetária mais rápida e de forma mais pronunciada que outros agentes antiplaquetários. Além disso, tem a grande vantagem dos seus efeitos serem reversíveis, o que permite um período mais curto de suspensão do tratamento antiplaquetário antes da cirurgia, reduzindo assim o risco de eventos trombóticos perioperatórios e hemorrágicos.^{4,5}

Ticagrelor pertence à classe química cliclopentilriazolopirimidina (CPTP), tendo sido aprovado pelo FDA (Food and Drug Administration) em julho de 2011 e obteve aprovação no Brasil pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no mesmo ano.^{6,7} É comercializado com o nome de Brilinta® na forma farmacêutica de comprimidos revestidos com 90 mg do fármaco e a indústria responsável pela sua fabricação é a AstraZeneca.

No que se refere à validação de metodologia analítica, o seu objetivo é demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida, ou seja, a determinação qualitativa, semi-quantitativa e/ou quantitativa de fármacos e outras substâncias em produtos farmacêuticos.⁸

Recentemente, a ANVISA publicou dia 25 de julho de 2017 no Diário Oficial da União (DOU), a Resolução RDC nº 166, que estabelece critérios atualizados para a validação de métodos analíticos e revoga a Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003, que também tratava de validação de métodos analíticos. Dentre as suas disposições gerais, é citado que: “a validação deve demonstrar que o método analítico produz resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se destina, de forma documentada e mediante critérios objetivos” e “a utilização de método analítico não descrito em compêndio oficial reconhecido pela ANVISA requer a realização de uma validação analítica, conforme parâmetros estabelecidos nesta resolução, levando-se em consideração as condições técnico-operacionais.”⁹

A literatura apresenta poucos relatos referentes à análise físico-química de Ticagrelor em comprimidos. Métodos usando Espectrofotometria no Ultravioleta e Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) onde se desenvolveu um estudo indicativo de estabilidade e um estudo da análise de impurezas, foram desenvolvidos e validados pelo grupo de pesquisa do Laboratório de Controle de Qualidade da Faculdade de Farmácia da UFRGS.¹⁰⁻¹²

CLAE é uma das técnicas cromatográficas mais utilizadas, mas a Cromatografia em Camada Delgada de Alta Eficiência (CCDAE) vem se destacando e mostrando ser uma excelente ferramenta analítica, pois, também une em uma só técnica a identificação (qualificação) e doseamento (quantificação) de compostos. Nesta técnica as cromatoplasmas possuem um material de revestimento otimizado, ou seja, tamanho reduzido de partícula de sílica, favorecendo o poder de separação dos componentes de uma mesma mistura.^{13,14}

Assim como em outras técnicas cromatográficas, a Cromatografia em Camada Delgada (CCD), possui alguns estágios que devem ser criteriosamente analisados em ensaios preliminares para obtenção de parâmetros adequados no método, como o processo de distribuição, que envolve um “adsorvente” adequado (fase estacionária), solvente ou mistura de solventes (fase móvel ou eluente) e as moléculas da amostra. A CCDAE é uma forma avançada de CCD, que além do uso de camadas adsorventes de alto desempenho, também inclui uma instrumentação adaptada.¹⁵

No que se refere ao funcionamento do equipamento, a primeira etapa é a aplicação da amostra através de uma seringa operada de forma automática, onde a amostra é aplicada em forma de banda ou ponto e sua velocidade e volume são definidos e controlados no

equipamento. No momento da eluição, um braço mecânico coloca a cromatoplaça em contato com a fase móvel. Uma das formas de detecção ocorre por densitometria, onde a cromatoplaça é colocada no interior de uma câmara escura e a leitura é realizada por banda em um comprimento de onda previamente determinado pela varredura da amostra no espectrofotômetro. As leituras podem ser realizadas em luz visível, ultravioleta ou por fluorescência e as respostas são convertidas em densitogramas, formando picos definidos de áreas para cada componente da amostra.¹⁴

Para a realização das análises é obrigatoriamente necessário o aplicador automático e a câmara de detecção, porém, é possível a realização da mesma colocando as cromatoplaças de forma manual na cuba.¹⁴

Algumas das vantagens de usar CCDAE para a análise de compostos em comparação com outras técnicas, como CLAE, espectrometria, titulações, etc., apresentam-se a seguir: menor quantidade de fase móvel; várias amostras podem ser separadas em paralelo na mesma placa resultando em um alto rendimento, e uma rápida análise de baixo custo; CCDAE pode usar diferentes modos de avaliação, permitindo a identificação de compostos com diferentes características de absorção de luz ou cores diferentes; as placas CCD são descartáveis, portanto, não é necessária uma limpeza essencial; após a separação, as placas podem ser armazenadas por um longo período de tempo, e a detecção pode ser realizada em uma etapa posterior para a obtenção da informação analítica; não requer bombas, válvulas e controles de pressão, tornando o método sustentável.^{15,16}

Há falta de dados na literatura relacionados à análise de Ticagrelor em comprimidos utilizando CCDAE, o que indica a possibilidade de desenvolvimento de um método analítico alternativo para a sua análise. Sendo assim, o objetivo desse estudo foi desenvolver e validar um método para análise de Ticagrelor em comprimidos revestidos utilizando a CCDAE.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais

Amostras de Ticagrelor na forma farmacêutica de comprimidos revestidos de 90 mg com o nome comercial Brilinta[®] foram obtidos a partir de farmácia comercial. A substância química de referência (SQR) de Ticagrelor com teor de 99,7% foi adquirida do Sequoia Research Products (Reino Unido). Para o preparo do placebo, os excipientes utilizados contidos na formulação foram manitol, fosfato de cálcio dibásico, amidoglicolato de sódio, hiprolose, estearato de magnésio, hipromelose, dióxido de titânio, talco, macrogol e óxido férrico amarelo. Para a fase móvel utilizou-se acetona grau P.A. (Dinâmica) e tolueno grau P.A. (Neon). Para o preparo das amostras e da substância química de referência utilizou-se metanol grau CLAE (Panreac) e essas amostras foram então sonicadas em ultrassom modelo USC 2850. Utilizou-se como fase estacionária cromatoplasmas para CCD com folhas de alumínio de sílica gel 60 F₂₅₄ de tamanho 20 x 20 cm (Merck e Whatman).

Desenvolvimento do método e sistema cromatográfico

Todo o método foi desenvolvido utilizando cromatoplasmas de CCD.

Foram feitos testes preliminares usando a técnica de CCD para se encontrar um sistema solvente adequado. Para isso, os testes foram realizados em todas as suas etapas manualmente com auxílio de uma lâmpada UV para identificação visual dos compostos em 254 nm. Inicialmente tentou-se reproduzir as condições de um sistema solvente de uma metodologia já descrita na literatura como indicativo de estabilidade, onde não foram obtidos resultados satisfatórios.¹⁷ A partir de então, testou-se 35 combinações de sistema solvente até se encontrar o mais adequado para identificação da amostra e seus possíveis produtos de degradação. Após esta etapa, os testes passaram a ser realizados no equipamento de CCDAE.

O método desenvolvido por CCDAE utilizou equipamento contendo um aplicador automático *Automatic TLC Sampler4*. As cromatoplasmas contendo as amostras foram eluídas manualmente em cubas de vidro de dimensões 12 x 22,5 x 8 cm com 40 mL de fase móvel. Determinou-se um tempo de saturação da fase móvel na cuba de 30 minutos e as placas foram cuidadosamente deixadas em capela para secagem de no mínimo de 45 minutos antes da sua leitura. O escaneamento das placas foi realizado por densitometria, utilizando scanner *TLC*

Scanner 4 e os dados foram analisado através de *software winCATS*. Todos os itens citados são da marca CAMAG

Os parâmetros utilizados para as análises cromatográficas estão descritos na Tabela 1.

Perfil ultravioleta

O perfil ultravioleta da solução padrão de Ticagrelor foi determinado através de uma varredura de 200 a 400 nm em espectrofotômetro da marca Shimadzu modelo 1800 com feixe duplo.

Preparo do padrão e amostra

Pesou-se uma quantidade suficiente de Ticagrelor SQR para o preparo da solução estoque na concentração de $1000,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ em balão volumétrico, utilizando como solvente metanol. Todas as diluições subsequentes foram realizadas utilizando somente metanol, onde, a concentração de trabalho foi de $400 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Para as amostras, foi necessário o preparo de um *pool* de 20 comprimidos revestidos de Ticagrelor na dose de 90 mg. Pesou-se 1 comprimido por vez e após foi feito a média dos 20 comprimidos que foram triturados em gral com auxílio de pistilo até se obter um pó homogêneo. A partir desse *pool*, preparou-se uma solução estoque na concentração teórica de $1000,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de ticagrelor em balão volumétrico e utilizando metanol como solvente. Essa solução foi sonicada por 30 minutos no ultrassom para solubilizar o fármaco, completando-se o volume com metanol. Após, a amostra foi filtrada com papel filtro duplo para retirada de particulados. Alíquotas foram retiradas dessa solução estoque para diluições subsequentes, todas realizadas em metanol. As soluções foram filtradas com membranas de $0,45 \mu\text{m}$ antes de serem aplicadas nas cromatoplacas.

Validação

A validação foi realizada de acordo com a Resolução RDC n° 166 de 24 de julho de 2017.⁹ Os parâmetros avaliados foram: especificidade/seletividade, linearidade, precisão, exatidão e robustez.

Especificidade/seletividade

A especificidade do método foi determinada frente à possível interferência dos excipientes da formulação, através da análise da amostra placebo e frente à interferência de produtos de degradação pelo estudo de degradação forçada da amostra do fármaco. Estudos na literatura relatam que Ticagrelor tem formação de produtos de degradação quando exposto a radiação UV-C e quando exposto a oxidação^{11,12}. Sendo assim, o fármaco foi submetido a condições de fotólise e oxidação. Todas as amostras foram comparadas com uma amostra controle, preparada da mesma maneira, porém sem exposição às fontes de degradação.

- Efeito da luz UV-C: alíquotas da solução estoque de Ticagrelor (1000,0 µg mL⁻¹) foram transferidas para cubetas as quais foram vedadas com filme plástico e expostas a uma câmara de radiação UV (100 x 18 x 17 cm) revestida com espelhos por 2 horas. Após o devido tempo, uma alíquota de 4,0 mL foi coletada e transferida para balão volumétrico de 10,0 mL e diluída com metanol.

Degradação oxidativa: foi transferida uma alíquota de 8,0 mL da solução estoque de ticagrelor (1000,0 µg mL⁻¹) para balão volumétrico de 10,0 mL completando-se o volume com peróxido de hidrogênio 3%. O balão volumétrico foi revestido com papel alumínio e a reação ocorreu por 2 horas. Após o devido tempo, uma alíquota de 5,0 mL foi coletada e transferida para balão volumétrico de 10 mL e diluída com metanol.

A pureza dos picos também foi analisada através da comparação da amostra com o padrão. Foi gerado um gráfico de pureza e através de software do equipamento foi realizado cálculo para comprovação da mesma.

Linearidade

A linearidade foi analisada através de curvas padrão construídas a partir de alíquotas da solução padrão estoque de Ticagrelor (1000,0 µg mL⁻¹) diluídas em metanol para obtenção das concentrações de 200,0; 300,0; 400,0; 500,0 e 600,0 µg mL⁻¹ e aplicadas nas cromatoplacas de CCD. Foram analisadas três curvas analíticas com 5 pontos (aplicados em triplicata) e os dados foram estatisticamente avaliados pela análise de variância (ANOVA).

Precisão

Para a precisão, avaliou-se a repetibilidade (intradia) e a precisão intermediária (interdias) das soluções amostras de ticagrelor.

As amostras de comprimidos de Ticagrelor foram pesadas por 6 vezes e diluídas em metanol para obtenção das soluções estoques (1000,0 µg mL⁻¹) que foram submetidas a banho de ultrassom por 30 minutos e filtradas em papel filtro duplo. Alíquotas foram retiradas das

soluções filtradas, transferidas para balão volumétrico e diluídas novamente em metanol para a obtenção da concentração de trabalho de $400,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. A repetibilidade foi então determinada pela análise de 6 replicas da amostra aplicadas na cromatoplaça em triplicata no mesmo dia e a precisão intermediária pela análise das 6 replicatas em 3 dias diferentes, totalizando 18 análises. Juntamente com as soluções amostra, uma solução padrão de Ticagrelor na concentração $400,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ foi aplicada em triplicata na cromatoplaça.

Calculou-se a concentração, o teor das amostras e seus respectivos desvios padrões relativos (DPR).

Exatidão

A exatidão foi realizada através do teste de recuperação, onde quantidades conhecidas da solução padrão de Ticagrelor foram adicionadas às amostras. Alíquotas de 2,0 mL da solução estoque de comprimidos de Ticagrelor ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) foram adicionadas em balões volumétricos de 10,0 mL, as mesmas foram fortificadas com solução padrão estoque de Ticagrelor ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) correspondentes a 10, 20 e 30% da concentração dessa solução e a diluição realizada com metanol.

Preparou-se simultaneamente soluções amostra e SQR na concentração de $200,0 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Robustez

Para a análise da robustez, pequenas alterações foram realizadas nos parâmetros utilizados para desenvolvimento da validação, tais como: mudança da cromatoplaça (CCDAE – Merck), variação no comprimento de onda de detecção (253 nm e 257 nm) e tempo de saturação da fase móvel na cuba (28 minutos e 32 minutos).

Calculou-se o teor das amostras nessas variações e o DPR em relação à condição normal de análise.

Comparação entre os métodos de CCDAE e CLAE

Para a comparação entre os métodos, amostras referentes aos comprimidos de ticagrelor de mesmo lote da análise na CCDAE e padrão de ticagrelor foram analisados por CLAE utilizando as condições de um método já validado e descrito na literatura.¹²

Com os resultados obtidos, uma análise estatística (teste *t-student*) foi realizada para verificar a equivalência entre os métodos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sistema cromatográfico e desenvolvimento do método

Há na literatura um estudo de análise de Ticagrelor em CCDAE intitulado como indicativo de estabilidade, porém ao degradar a amostra e reproduzir o método, não foi possível visualizar na cromatoplaça nenhuma banda além das bandas da amostra e padrão.¹⁷ Com o resultado insatisfatório, foram realizados manualmente, sem o uso do equipamento, 35 testes com sistemas de solventes e se estabeleceu como o mais adequado a fase móvel composta por acetona : tolueno (6,0 : 4,0 v / v), onde foi possível identificar visualmente a amostra, padrão e um possível produto de degradação, quando a amostra foi exposta a radiação UV-C como pode ser observado na Figura 2.

Os testes passaram a ser realizados no equipamento de CCDAE e após o desenvolvimento do método, a solução amostra e padrão produziram os cromatogramas ilustrados na Figura 3.

O Ticagrelor apresentou Rf de aproximadamente 0,47.

Perfil ultravioleta

A análise de Ticagrelor no espectrofotômetro UV-VIS demonstrou um máximo de absorção em 255 nm e outro em 295 nm, porém foi possível observar uma absorção ligeiramente maior no primeiro. Sendo assim, optou-se por manter o comprimento de onda de análise em 255 nm, pois além deste ser o comprimento de onda validado em trabalhos anteriores descritos na literatura, também favorece posteriores comparações entre os métodos.^{10,12}

Validação

Especificidade/seletividade

Com os resultados da análise da especificidade foi constatado que os excipientes da formulação (matriz) não interferem na análise de ticagrelor. Quando a amostra foi exposta à

radiação UV-C por 2 horas, apresentou a formação de um possível produto de degradação, assim como quando a amostra foi exposta à oxidação por 2 horas com peróxido de hidrogênio 3%, contudo, os picos referentes a esses produtos de degradação possuem Rf diferentes do Rf da SQR, o que indica que os produtos formados não interferem na análise de ticagrelor. A Figura 4 ilustra os densitogramas gerados para a análise da especificidade.

Um gráfico de dispersão para análise da pureza também foi traçado a partir da sobreposição do padrão e amostra conforme ilustrado na Figura 5. O software do equipamento indicou uma correlação muito próxima da unidade, comprovando a sua pureza.

Linearidade

Os resultados de análise da linearidade demonstraram que o método apresentou correlação linear entre as áreas e as concentrações para a faixa de 200,0 a 600,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com um coeficiente de correlação (r) de 0,9979 e coeficiente de determinação (R^2) de 0,9958 como ilustrado na Figura 6. A análise da variância demonstrou regressão linear significativa, não havendo desvio da linearidade ($F_{\text{calc}} = 2,02 < F_{\text{tab}} = 3,71$).

Precisão

A precisão do método foi determinada pela repetibilidade (intradia) e precisão intermediária (interdias), avaliando os seus respectivos desvios padrões relativos (DPR). O teor obtido para a análise das amostras de ticagrelor no mesmo dia foi de 97,1%. Para as análises realizadas no segundo e terceiro dia os teores obtidos foram de 98,95% e 98,77%, respectivamente. Os valores de DPR encontrados através das análises dos 3 dias diferentes foram inferiores a 5% e estão dispostos na Tabela 2. Os resultados cumpriram com os requisitos da legislação, demonstrando que o método proposto é preciso.

Exatidão

Os resultados obtidos através do teste de exatidão foram insatisfatórios, com intervalos de variação de recuperação de 60,4 a 114,7 %, 50,35 a 119,1 % e 36,87 a 99,96 % para R1, R2 e R3, respectivamente. Por tanto, a repetição dos testes se faz necessária na tentativa de se obter resultados satisfatórios. Caso os resultados continuem sendo insatisfatórios para esse parâmetro, algumas alternativas seriam aumentar as quantidades de padrão que fortificam as amostras e até mesmo usar uma solução placebo ao invés da solução que contém a amostra acabada para fortificar com o padrão. Se ainda assim os resultados

insatisfatórios persistirem, pode-se levar em consideração o uso das cromatoplasmas de CCDAE para a validação do método, pois, esta possui tamanho de partícula menor quando comparada a cromatoplasma de CCD, o que melhora as condições de resolução do método.

Esse método possui vantagens consideráveis em relação ao CLAE, principalmente quando se trata de custo benefício. A ideia desse estudo foi utilizar as cromatoplasmas de CCD com o objetivo de diminuir o custo do método. Porém temos a exatidão como uma etapa crítica na validação, assim como um estudo na literatura relata a dificuldade de realização desse parâmetro.¹⁸ Sendo assim, nesta etapa, as cromatoplasmas de CCD podem ter se tornado um empecilho para a validação desse método.

Robustez

Na Tabela 3 é possível observar que os resultados obtidos através das variações dos parâmetros demonstraram que não houve diferença significativa no teor entre as amostras, assim como o DPR se manteve abaixo de 5% em relação às condições normais de análise, o que demonstra a robustez do método.

Comparação entre os métodos de CCDAE e CLAE

A comparação dos resultados obtidos da análise dos métodos foi realizada utilizando o teste estatístico *t-Student* onde se pode constatar que houve uma diferença significativa entre os métodos ($p < 0,05$). Na Tabela 4 é possível observar a comparação entre os teores e seus respectivos DPR.

Essa diferença pode estar relacionada à sensibilidade de cada método que foi analisada a partir do cálculo de limite de detecção (LD), apresentando valores de $6,39 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $52,25 \mu\text{g mL}^{-1}$ para CLAE e CCDAE, respectivamente. Através desses valores é possível concluir que o método por CLAE é mais sensível, o que também justifica o maior teor encontrado nesse método. Outra questão está relacionada ao tamanho de partícula da sílica das fases estacionárias do CLAE e CCD que são, respectivamente, $5 \mu\text{m}$ e $10 \mu\text{m}$, o que pode ser responsável por proporcionar uma melhor separação dos compostos e melhor resolução pela fase estacionária do método de CLAE quando comparada a fase estacionária de CCD. E, outra razão que também pode explicar essa diferença está relacionada com a maneira de detecção de cada método. Tanto o CCDAE quanto o CLAE utilizam luz UV para detecção dos analitos. Na detecção por CCDAE, ela é realizada por densitometria através de uma varredura das manchas de forma individual ao longo da linha de eluição da placa, através de reflexão ou

absorção de um feixe de luz e a diferença entre a intensidade da luz refletida (ou absorvida) pelo adsorvente pelas manchas dos analitos é observada na forma de picos.¹⁹ Na detecção por CLAE o detector entra em contato com o analito solubilizado na fase móvel, sem a presença da fase estacionária e emite sinais em forma de picos, fornecendo o tempo de retenção do mesmo e esse tempo de retenção varia de acordo com as interações da amostra com as fases estacionária e móvel.

Alguns estudos trazem que as análises em cromatografia líquida geralmente são consideradas mais robustas, sendo capazes de obter maiores graus de precisão na replicação e quantificação.²⁰

Todavia, o método de CCDAE tem vantagens em relação à cromatografia líquida, sendo possível a análise de um grande número de amostras em uma só placa, volume menor de solvente e tempo menor de análise. Pensando nessas vantagens, algumas considerações podem então serem feitas. Pode-se sugerir o uso da CCDAE como uma análise quantitativa de triagem e a cromatografia líquida como uma análise quantitativa confirmatória para ticagrelor em comprimidos, mas isso vai depender da disponibilidade de equipamentos no laboratório e do tempo disponível para as análises. Ressaltando que para isso é necessário o desenvolvimento do método com todos os parâmetros aprovados.

CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos nesse estudo, conclui-se que o método proposto para a análise de ticagrelor em comprimidos usando CCDAE atendeu aos parâmetros de especificidade, linearidade, precisão e robustez, porém, não se mostrou exato dentro das condições estudadas. Por tanto, são necessárias repetições do parâmetro referente à exatidão a fim de validar o método.

Ao comparar os métodos CCDAE e CLAE foi provado que houve uma diferença estatística significativa entre eles e isso pode estar relacionado à recuperação de cada método, ao tamanho de partícula das fases estacionárias e as suas formas de detecção.

PERSPECTIVAS

Repetição dos testes para o parâmetro exatidão. Se os resultados obtidos forem satisfatórios, o método será validado e o artigo poderá ser submetido à publicação.

REFERÊNCIAS

1. Levine, G. N.; Jeong, Y.; Goto, S.; Anderson, J. L.; Huo, Y.; Mega, L. J.; Taubert, K.; Smith, S. C.; *Nature Reviews Cardiology*. **2014**, 11, 597.
2. http://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=5253:doencas-cardiovasculares&Itemid=839, acessada em novembro de 2017.
3. Sinha, N.; *Indian Heart Journal*. **2012**, 64, 497.
4. Airoidi, G.; Campanini, M.; *Italian Journal of Medicine*. **2011**, 5, 55.
5. Zhang, H.; Liu, J.; Zhang, L.; Kong, L.; Yao, H.; Sun, H.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. **2012**, 22, 3598.
6. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=overview.process&applno=022433>, acessada em novembro de 2017.
7. <http://portal.anvisa.gov.br/>, acessada em novembro de 2017.
8. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA; RE nº 899 de 29/05/2003: *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*, Ministério da Saúde: Brasil 2003.
9. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA; RDC de 24 de julho de 2017: *Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências*, Ministério da Saúde: Brasil 2017.
10. Oliveira, S. S.; Bitencourt, A. S.; Gobetti, C.; Mendez, A. S. L.; Garcia, C. V.; *Current Pharmaceutical Analysis*. **2017**, 13, 538.
11. Bueno, L. M.; Manoel, J. W.; Giordani, C. F. A.; Mendez, A. S. L.; Volpato, N. M.; Schapoval, E. E. S.; Steppe, M.; Garcia, C. V.; *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. **2017**, 97, 22.
12. Gobetti, C.; Pereira, R. L.; Mendez, A. S. L.; Garcia, C. V.; *Current Pharmaceutical Analysis*. **2014**, 10, 279.
13. Srivastava, M. M. Em *High-Performance Thin-Layer Chromatograph (HPTLC)*; Srivastava, M. M.; Springer-Verlag: Berlin, 2011, cap 1.
14. Koetz, M.; *Dissertação de mestrado*, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 2017.
15. Shewiyo, D. H.; Kaale, E.; Risha, P. G.; Dejaegher, B.; Smeyers-Verbeke, J.; Heyden, Y. V.; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2012**, 66, 11.
16. Kaale, E.; Risha, P.; Layloff, T.; *Journal of Chromatography A*. **2011**, 1218, 2732.

17. Shah, D. A.; Shunmuganathan, E. L.; Mehta, F. A.; Chhalotiva, U. K.; *Indian Drugs*. **2016**, 53, 34.
18. Ariburnu, E.; Uludag, M. F.; Yalcinkaya, H.; Yesilada, E.; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2012**, 64 -65, 77.
19. Neto, A.; Radler, F.; *Cromatografia: princípios básicos e técnicas afins*, 1º ed., Rio de Janeiro: Interciencias , 2003.
20. Loescher, C. M.; Morton, D. W.; Razic, S.; Snezana, A. K.; *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **2014**, 98, 52.
21. ICH; *International Conference on Harmonization of Technical Requeriments for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*, Q2B(R1): Guideline on Validation of Analytical Procedure-Methodology, 2005.
22. Koetz, M.; Santos, T. G.; Rayane, M.; Henriques, A. T.; *Drug Analytical Research*. **2017**, 1, 44.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Figuras

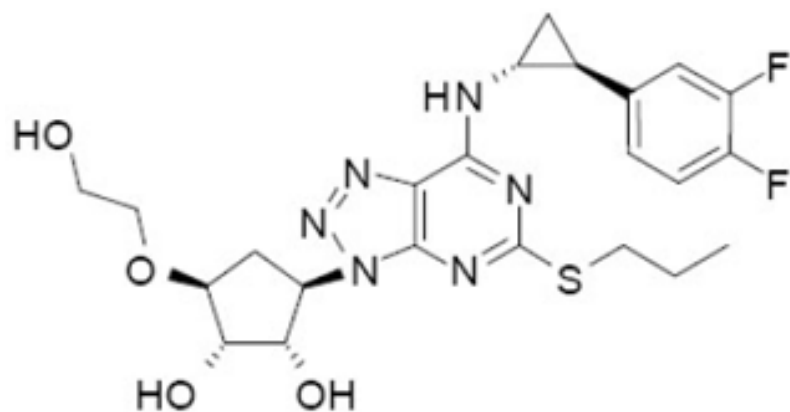


Figura 1S. Estrutura química de Ticagrelor.

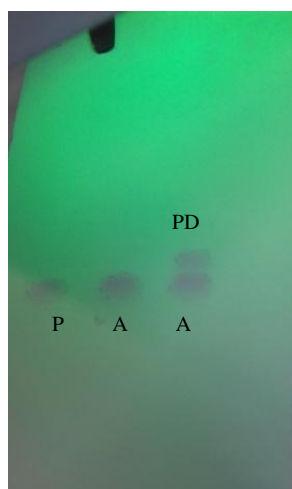


Figura 2S. Identificação visual de ticagrelor (P) Padrão, (A) Amostra e (PD) seu possível Produto de Degradação frente à luz UV-C.

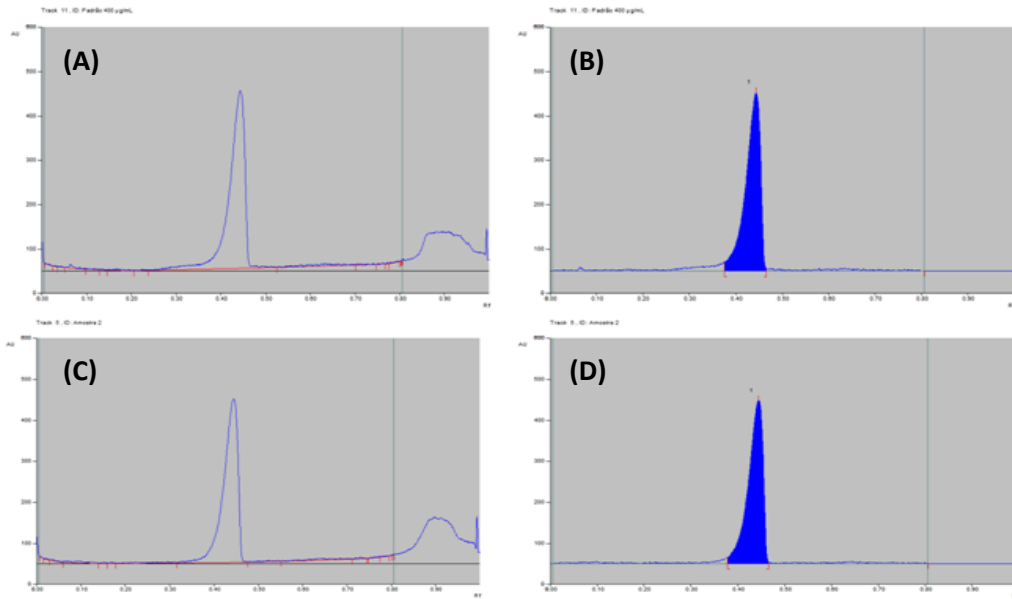


Figura 3S. Densitogramas obtidos para o método desenvolvido por CCDAE. (A) Pico do padrão, (B) pico do padrão integrado, (C) pico da amostra e (D) pico da amostra integrada.

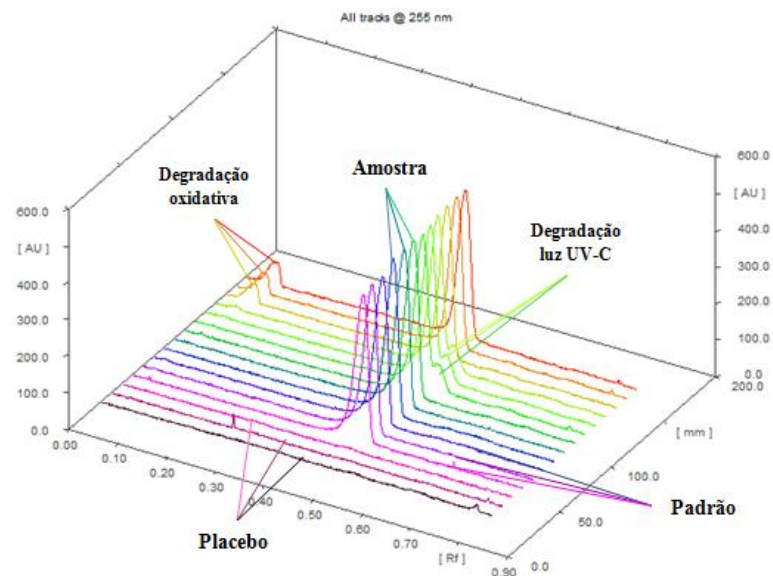


Figura 4S. Densitograma 3D do placebo, padrão, amostra, amostra degradada frente oxidação e amostra degradada frente à luz UV-C.

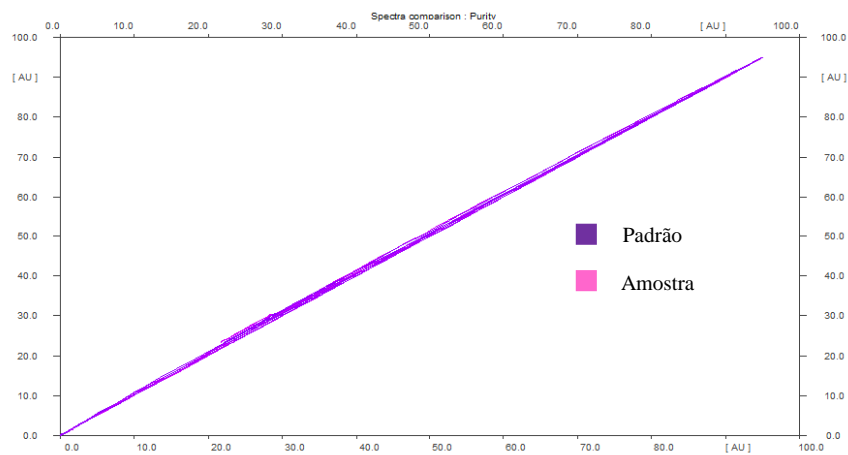


Figura 5S. Gráfico de comparação da amostra e padrão de ticagrelor para análise da pureza.

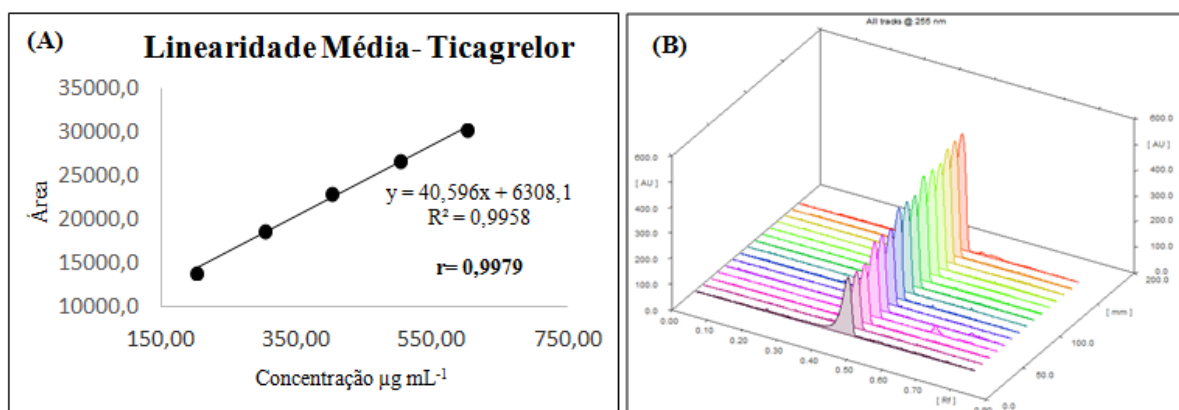


Figura 6S. (A) Representação gráfica da curva padrão de ticagrelor e (B) curva padrão de ticagrelor em 3D.

Tabelas

Tabela 1S. Parâmetros estabelecidos para análise de Ticagrelor por CCDAE.

Parâmetro	Especificação
Fase Móvel (v / v)	Acetona : Tolueno (6,0 : 4,0)
Volume de amostra aplicado (µL)	15
Tamanho da Banda (mm)	5,0
Distância entre as bandas (mm)	9,0
Distância em relação ao eixo x (mm)	10,0
Distância em relação ao eixo y (mm)	10,0
Comprimento de Onda scanner (nm)	255
Abertura da fenda scanner (mm)	5,0 x 0,3

Tabela 2S. Resultados obtidos da análise de precisão de ticagrelor para o método de CCDAE.

	Teor* (%)	DPR intradia (%)
Dia 1	97,10	1,69
Dia 2	98,95	3,06
Dia 3	98,77	2,71
	Teor** (%)	DPR interdias (%)
	98,27	1,04

*média de 6 determinações

**média de 18 determinações

Tabela 3S. Robustez do método por CCDAE.

Parâmetro	Parâmetro alterado	Teor (%)	DPR (%)
Cromatoplaça	CCDAE	100,1	1,30
Saturação do solvente na cuba	28 min	100,8	1,80
	32 min	96,72	1,12
Comprimento de onda	$\lambda= 253$ nm	99,35	0,77
	$\lambda= 257$ nm	99,42	0,82

Tabela 4S. Comparação entre os métodos CCDAE e CLAE.

	CCDAE	CLAE
Teor (%)	98,27	103,3
DPR (%)	1,04	0,20

ANEXO

Regras para publicação na Revista Química Nova.

Normas de publicação

1. GERAL

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

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

Artigos sobre Educação: trabalhos de pesquisas relacionadas ao ensino de graduação em Química e divulgação de experiências inovadoras no ensino de graduação e pós-graduação. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, e outros elementos.

Notas Técnicas: trabalhos de comunicação de métodos, técnicas, aparelhagens ou acessórios desenvolvidos no laboratório de origem do autor do manuscrito, desde que apresentem acentuado conteúdo químico. Devem seguir a forma usual de apresentação, contendo as seções *Introdução, Parte Experimental, Resultados e Discussão, Conclusão e Referências*, de acordo com as peculiaridades de cada trabalho. Deverão ter no máximo 25 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas, etc.

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

Artigos de Revisão: destinados à apresentação do progresso em uma área específica de Química, com o objetivo de dar uma visão crítica do estado da arte do ponto de vista do

especialista altamente qualificado e experiente. Deverão ter no máximo 40 páginas, incluindo figuras, tabelas, esquemas e outros elementos.

Para submeter um artigo de Revisão, é imprescindível que o autor tenha publicações que comprovem a sua experiência e qualificação na referida área. Antes do envio do manuscrito, o autor deverá submeter à editoria, para quimicanova@sbq.org.br, um resumo da revisão pretendida, acompanhado de uma carta explicativa da pertinência do trabalho e lista de publicações do autor na área em que pretende publicar. O material será analisado pelos Editores e, uma vez aprovado, será solicitado ao autor o envio do manuscrito completo, dentro das normas de QN, e só então será dado início ao processo de avaliação pelos assessores. O aceite da submissão não garante a publicação do manuscrito, que passará pelo processo formal de avaliação equivalente ao das outras modalidades.

2. ANTES DA SUBMISSÃO

2.1. Direitos autorais

Ao submeter um manuscrito à revista Química Nova, assume-se que ele não foi publicado previamente, que não está sob processo de avaliação por outra entidade e que não será publicado simultaneamente em outro veículo de divulgação, no mesmo formato, sem a permissão por escrito dos Editores. Além disso, subentende-se que o autor responsável pela submissão tem o consentimento de todos os outros autores. Os autores também concordam que os direitos autorais do manuscrito serão transferidos para a Sociedade Brasileira de Química (SBQ), caso o manuscrito seja aceito para publicação. Manuscritos aceitos e ilustrações se tornarão propriedades da SBQ.

2.2. Organização do manuscrito

Os manuscritos deverão apresentar clareza e concisão. A seção *Introdução* deverá identificar de forma clara e breve, utilizando-se de referências relevantes, a natureza do problema sob investigação e o conhecimento prévio a respeito dele. Revisões extensas da literatura não serão aceitas.

A seção *Parte Experimental* pode preceder ou vir após a seção *Resultados e Discussão*, mas devem ser necessariamente separadas. A seção *Conclusões*, que resumirá

brevemente as principais conclusões do trabalho, deverá ser disposta logo após a seção *Resultados e Discussão*.

A parte experimental do manuscrito deve descrever os experimentos de maneira suficientemente detalhada para que outros pesquisadores possam reproduzi-los. O grau de pureza dos materiais utilizados deve ser fornecido, bem como todas as quantidades utilizadas. A descrição de procedimentos já estabelecidos não é necessária. A instrumentação utilizada só deve ser descrita caso não seja padrão. Deve-se referir a instrumentos disponíveis comercialmente a partir de suas marcas e modelos.

Todos os compostos novos devem ser completamente caracterizados, incluindo dados espectroscópicos e análises elementares. Espectros de massas de alta resolução poderão substituir análises elementares caso sejam acompanhados de provas inquestionáveis da pureza da amostra (pontos de fusão, cópias dos espectros RMN, etc.). Para compostos sintetizados em formas enantiomericamente puras ou enantiomericamente enriquecidas, sua rotação específica deverá ser fornecida. Nos casos em que o excesso enantiomérico for determinado por técnicas cromatográficas e/ou espectroscópicas, as cópias dos cromatogramas e/ou espectros devem ser incluídas no Material Suplementar (ver seção *Material Suplementar*).

Muitas publicações de Química Teórica e/ou Computacional utilizam rotinas baseadas em métodos bem documentados, sejam semi-empíricos ou *ab initio*. Neste caso é suficiente citar a variante utilizada, referindo-se a publicações importantes nas quais os métodos foram desenvolvidos, e o programa de computador utilizado, indicando brevemente as modificações realizadas pelo autor.

É de responsabilidade dos autores a obtenção de permissões para reprodução de gráficos e imagens retiradas de outros periódicos. Essas permissões para reprodução devem ser enviadas no momento da submissão, juntamente com os outros arquivos do manuscrito. A reprodução deve também ser informada nas respectivas legendas.

Os Editores poderão solicitar a revisão do idioma do manuscrito em qualquer etapa do processo de avaliação do manuscrito. Neste caso, os autores deverão apresentar um certificado de revisão por empresa/profissional especializado, que deve ser submetido pela plataforma ScholarOne no momento da submissão da versão revisada do manuscrito.

2.3. Preparo dos manuscritos

Geral

Deve-se utilizar a fonte Times New Roman, tamanho de 12 pt e cor preta. O espaçamento entre linhas deve ser de 1,5×. As páginas devem ser numeradas consecutivamente, no canto inferior direito. As linhas e os títulos e subtítulos das seções não devem ser enumerados. Os títulos das seções devem ser escritos em negrito e caixa alta, os subtítulos apenas em negrito e os subsubtítulos apenas em itálico.

O Material Suplementar deve ser o último elemento do manuscrito, e deve conter informações relevantes e complementares àquelas já apresentadas no manuscrito (ver seção Material Suplementar).

Detalhes

A primeira página deverá conter o *graphical abstract* (ver seção *Graphical Abstract*), título do trabalho, em negrito e caixa alta, nome dos autores em negrito e endereço. Se o endereço onde o trabalho foi conduzido é diferente do endereço atual de qualquer um dos autores, uma nota de rodapé indicando a posição atual pode ser incluída. Havendo autores com diferentes endereços, estes deverão ser listados em sequência e indicados utilizando-se letras sequenciais.

Um exemplo:

José A. Benício^a, Maria C. Cavalcante^b e João D. de Almeida^{a,*}

^aDepartamento de Química, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900 Maringá - PR, Brasil

^bDepartamento de Química Fundamental, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, 05508-000 São Paulo - SP, Brasil

*e-mail: jalmeida@dq.uem.br

Como mostra o exemplo, o autor para correspondência deverá ser indicado com asterisco (*) e seu e-mail colocado logo abaixo dos endereços. A menor unidade do endereço deve ser o departamento. Em seguida devem ser indicados a faculdade/instituto, a universidade, o CEP, a cidade, o estado e o país. Laboratórios, programas de pós-graduação e cursos não devem ser inclusos no endereço. A segunda página deverá conter o título e o resumo do trabalho, ambos em inglês, com no máximo 200 (duzentas) palavras, e a indicação

de 3 a 5 palavras-chave (keywords), também em inglês. O texto deve se iniciar a partir da terceira página do manuscrito.

Ao longo do texto, o autor deve se atentar às seguintes regras:

- Palavras em língua estrangeira (inglês, francês, latim, etc.) deverão ser escritas em itálico.
- Nomes científicos de espécies devem ser escritos em itálico, com a primeira letra do nome em caixa alta.

Alguns exemplos:

... os experimentos foram realizados *in situ*;

A bactéria *Escherichia coli*...;

O tratamento dos dados foi realizado a partir do *software* Origin;

Todas as unidades devem ser separadas dos valores por um espaço simples (inclusive o grau Celsius). A mesma regra é válida para o caso de unidades em sequência.

Alguns exemplos:

10 °C;

15 mg L⁻¹ (evitar mg/L);

10 m s⁻² (evitar m/s²);

Atenção: Toda a nomenclatura utilizada deverá ser consistente, clara e de acordo com as regras estabelecidas por entidades apropriadas, como IUPAC, *International Union of Biochemistry*, *Abstracts Service*, *Nomenclature Committee of the American Chemical Society*, entre outras. Símbolos e unidades deverão seguir as recomendações da IUPAC. Os autores devem evitar o uso de unidades que não fazem parte do SI.

Normas para elementos gráficos e tabelas

Gráficos e Figuras: textos, nomes dos eixos e quaisquer outros elementos textuais que acompanham os elementos gráficos devem ser consistentes ao longo de todo o trabalho em relação à fonte, ao tamanho da fonte, ao espaçamento e à cor. Para elementos gerados por computador, deve-se evitar planos de fundo ou sombreamento.

Fórmulas estruturais e equações químicas: todas as estruturas químicas ou equações devem ser escritas utilizando a mesma fonte ao longo do manuscrito.

Equações: as equações devem ser escritas utilizando-se um editor de equações (MathType, Equation, entre outros) e devem ser numeradas sequencialmente ao longo do manuscrito.

Fotografias: As fotografias devem apresentar contraste e não devem ser montagens. Caso haja necessidade de uma escala, ela deve ser desenhada sobre a figura e não abaixo. Não serão aceitas fotografias de equipamentos comerciais.

Tabelas: as tabelas devem ser formatadas de modo a fornecer informações diretas ao leitor. Sombreamentos e negritos devem ser evitados. Qualquer informação extra deve vir abaixo da tabela, na forma de nota de rodapé, utilizando-se as letras a, b, c e assim por diante.

Graphical abstract (em inglês): O *graphical abstract* deve resumir o conteúdo do trabalho de forma concisa e dedicada a capturar a atenção de um público amplo. O autor deve apresentar uma figura nova, usando como parâmetro uma estrutura chave, uma reação, uma equação, um conceito, um gráfico, um teorema, entre outras possibilidades. Recomenda-se que seja de caráter artístico e possua cores diversas. Não serão aceitas fotos de equipamentos comerciais.

Atenção: a imagem deve possuir alta resolução (em formato .tiff, .jpg ou qualquer outro de ampla utilização que possa ser editado) e tamanho de 4 cm de altura por 8 cm de largura [os elementos textuais devem ser legíveis nessas dimensões]. Junto com o *graphical abstract*, o autor deverá enviar um texto explicativo em inglês (em arquivo .txt, .rtf ou .doc) de, no máximo, 3 linhas.

Normas para citações e lista de referências

Os elementos gráficos e as tabelas devem ser numeradas e citadas no texto, utilizando-se a primeira letra em caixa alta. Não se deve abreviar as citações.

Alguns exemplos:

... como pode ser verificado na Tabela 1.

A Figura 3 mostra o sistema utilizado...

(Tab. 1, Fig. 1 e quaisquer outras abreviações dos títulos dos elementos não devem ser utilizadas)

As citações de referências devem ser feitas de forma consecutiva, na forma numérica sobrescrita (sem parênteses ou colchetes), sempre após a pontuação, quando houver. Citações de duas ou mais referências devem ser separadas por vírgulas. Citações de três ou mais referências consecutivas devem ser agrupadas, utilizando-se o hífen (-). Não utilizar espaços entre as citações ou entre a citação e o caractere sobre o qual está posicionada.

A Química Nova não publica notas de rodapé. Quaisquer notas do autor devem ser incluídas na lista de referências e, no texto, devem seguir o mesmo padrão das citações, mantendo inclusive a sequência numérica.

Alguns exemplos:

Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura.^{3,7,8}

Existe extensa literatura a respeito do sistema utilizado,⁹⁻¹² bem como das propriedades dos materiais empregados.¹³

salicilato de sódio,¹⁻³

Nishide *et al.*,⁴

... pela redução do ácido crômico,^{4-8,12}

(Três ou mais referências consecutivas devem ser citadas utilizando-se o hífen)

Na seção Referências, as abreviações dos títulos de periódicos devem estar de acordo com as definidas no Chemical Abstracts Service Source Index (ver <http://cassi.cas.org>). Caso o periódico não esteja listado no CASSI, o título deve ser escrito por extenso.

As normas para o ano, o volume e as páginas seguem abaixo para diversos tipos de literaturas. A pontuação, os espaçamentos, os negritos e os itálicos devem ser verificados com atenção. Manuscritos com referências fora das normas da revista serão reenviados ao autor até que os erros sejam verificados e corrigidos.

1. Varma, R. S.; Singh, A. P.; *J. Indian Chem. Soc.* **1990**, *67*, 518.
2. No caso especial da revista citada não ser de fácil acesso, é recomendado citar o

seu número de Chemical Abstract, como segue:
Provstyanoi, M. V.; Logachev, E. V.; Kochergin, P. M.; Beilis, Y. I.; *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved.; Khim. Khim. Tekhnol.* **1976**, *19*, 708. (CA 85:78051s).

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

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

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

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

Patentes:

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

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

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

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

Livros:

com editor(es):

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

sem editor(es):

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

Programas de computação (softwaares):

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

Teses:

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

Material apresentado em Congressos:

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

Páginas internet:

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

Material não publicado:

Para material aceito para publicação: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, no prelo.

Para material submetido mas ainda não aceito: Magalhães, U. H.; *J. Braz. Chem. Soc.*, submetido. Para trabalho não publicado ou comunicação pessoal: Magalhães, U. H.; trabalho não publicado ou Magalhães, U. H., comunicação pessoal. Resultados não publicados só poderão ser citados com a permissão explícita das pessoas envolvidas na sua obtenção.

Manuscritos contendo RMN, IV, espectros de massas, etc.

Sempre que um composto é sintetizado ou identificado (novo ou conhecido previamente), é obrigatório o envio de todos os dados espectrais (dados e espectros) como Material Suplementar (ver seção Material Suplementar) no momento da submissão do manuscrito.

Material suplementar

Esta modalidade foi criada para que o texto principal seja objetivo e contenha o número estritamente necessário de Figuras e Tabelas.

O conteúdo do Material Suplementar (MS) deverá ser colocado no final do trabalho, após a seção REFERÊNCIAS. Quando houver MS, deve ser criada uma seção MATERIAL SUPLEMENTAR, logo após a seção CONCLUSÃO, com a descrição de seu conteúdo. O texto deve também indicar o acesso livre ao MS a partir do website da revista Química Nova (<http://quimicanova.sbq.org.br/>).

Elementos gráficos e Tabelas do Material Suplementar devem ser numeradas sequencialmente, com a letra S após a numeração. Ex: Figura 1S, Tabela 4S, etc.

Apesar de complementar a informação do manuscrito, o MS deve ser um documento completo. Caso sejam usadas referências, elas devem ser listadas ao final do próprio MS e numeradas na forma 1S, 2S, ...

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

3. DURANTE A SUBMISSÃO

A QN oferece aos autores apenas submissão on line.

Todos os autores devem ter seus nomes introduzidos na plataforma, portanto, durante a submissão, preencha os campos necessários informando o endereço de e-mails dos coautores.

Na plataforma ScholarOne-QN é necessário fazer o *upload*, SEPARADAMENTE, dos seguintes materiais:

1. *Main document* (full.doc), incluindo todas as figuras, tabelas e respectivas legendas, as quais devem ser inseridas após a primeira citação. Esse arquivo deve ser feito utilizando, necessariamente, o modelodisponível para *download*. No caso do manuscrito conter Material Suplementar, esse deve ser adicionado no final do *main document*.
2. Todos os arquivos originais de figuras, incluindo o *graphical abstract*, em jpg, tiff, opj, xls, cdx, etc. Por exemplo, se o manuscrito contiver 6 figuras, é necessário fazer o upload dos 6 arquivos originais (opj, xls, tiff, etc.) e também o *main document* com as figuras inclusas.

Observação:

- No caso da figura ser um arquivo de imagem, esse precisa ter alta resolução (mínimo de 300 dpi);

- Por favor, não envie as figuras inseridas num arquivo .doc, envie todos os arquivos originais (opj, xls, tiff, etc.). Isso irá acelerar a avaliação de seu manuscrito e o processo de publicação, no caso de o manuscrito ser aceito.

Atenção: apesar de a versão online da revista ser colorida, as impressões são feitas em preto e branco (exceto pelos graphical abstracts). Ao produzir as figuras, os autores devem ter em mente que estas serão convertidas no momento da impressão, evitando assim possível perda de informações baseadas unicamente nas cores.

3. Um único arquivo .doc ou .docx contendo todas as tabelas;

4. Arquivos originais das figuras do Material Suplementar.

A Editoria de QN reserva-se o direito de efetuar, quando necessário, pequenas alterações nos manuscritos, de modo a adequá-los às normas da revista ou tornar seu estilo mais claro, respeitando, naturalmente, o conteúdo do trabalho. Qualquer que seja a natureza do manuscrito submetido, ele deve ser original em nível de metodologia, informação, interpretação ou crítica. A qualificação do trabalho poderá ser atestada por consultor(es) ad hoc, indicados pela Editoria.