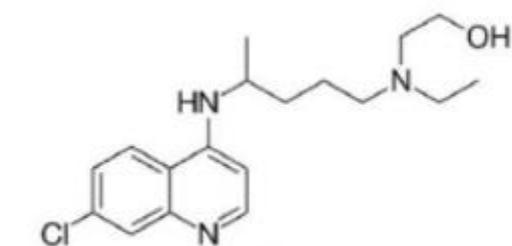
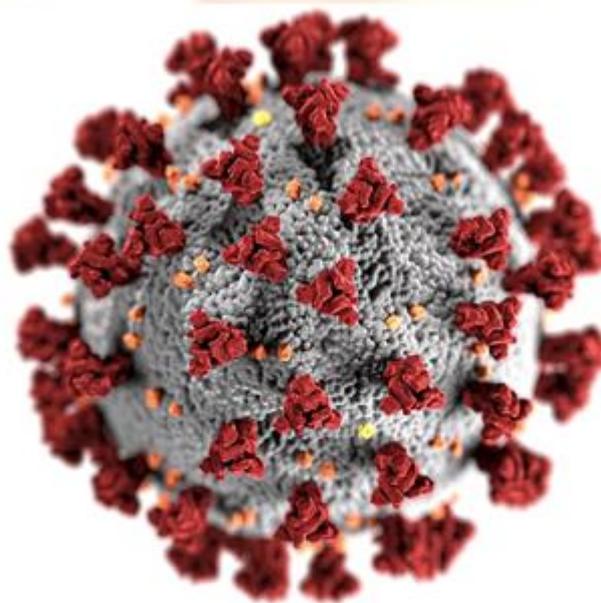
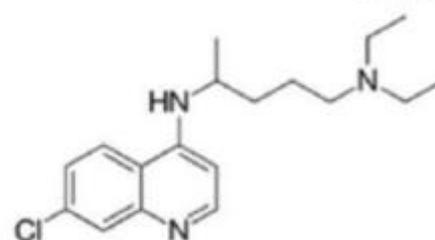


Informativos sobre o uso da cloroquina no enfrentamento da COVID-19

ISSN 2675-4045



HIDROXICLOROQUINA



CLOROQUINA

VOLUME I
INFORMATIVO Nº 06

**CARACTERIZAÇÃO
BIOFARMACÊUTICA**

JUNHO/2020

CiPharma - Ciência em Ação

CLOROQUINA

No enfrentamento da COVID-19



2020 PPG CiPharma.

É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

Elaboração, distribuição e informações

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPG CiPharma

Escola de Farmácia

Universidade Federal de Ouro Preto

Campus Morro do Cruzeiro s/n, CEP: 35400-000 – Ouro Preto/MG

Tel: (31) 3559-1054

Site: <https://covid19.cipharma.ufop.br>

E-mail: cipharmarespondesobrecloroquinacovid-19@ufop.edu.br

Equipe responsável

Prof. Dr. André Luís Morais Ruela (DEFAR/Universidade Federal de Ouro Preto)

MSc. Débora Priscila de Campos (PPG CiPharma/Universidade Federal de Ouro Preto)

Prof^a. Dr^a. Dênia Antunes Saúde Guimarães (DEFAR/Universidade Federal de Ouro Preto)

Prof. MSc. Euler Horta Marinho (DECSI/Universidade Federal de Ouro Preto)

Prof^a. Dr^a. Flávia Dias Marques Marinho (DEFAR/Universidade Federal de Ouro Preto)

Prof^a. Dr^a. Jacqueline de Souza (DEFAR/Universidade Federal de Ouro Preto)

Prof^a. Dr^a. Lorena Ulhôa Araújo (DEFAR/Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri)

Prof^a. Dr^a. Mônica Cristina Teixeira (DEFAR/Universidade Federal de Ouro Preto)

Prof^a. Dr^a. Neila Márcia Silva Barcellos (DEFAR/Universidade Federal de Ouro Preto)

Dr^a. Tamires Guedes Caldeira (PPG CiPharma/Universidade Federal de Ouro Preto)

Coordenação e supervisão

Prof^a. Dr^a. Jacqueline de Souza (DEFAR/UFOP)

CARACTERIZAÇÃO BIOFARMACÊUTICA

Em 1995 foi proposto por Amidon e colaboradores o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). Este sistema é fundamentado no princípio de que o controle da extensão e da velocidade de absorção de um fármaco, veiculado em forma farmacêutica sólida administrada por via oral, depende de três aspectos: a solubilidade do próprio fármaco, sua permeabilidade através das membranas biológicas e sua dissolução a partir da forma farmacêutica (AMIDON et al., 1995).

Considerando os parâmetros de solubilidade e permeabilidade, quatro classes foram propostas pelo SCB para agrupar os fármacos (AMIDON et al., 1995):

- **CLASSE I:** alta solubilidade e alta permeabilidade
- **CLASSE II:** baixa solubilidade e alta permeabilidade
- **CLASSE III:** alta solubilidade e baixa permeabilidade
- **CLASSE IV:** baixa solubilidade e baixa permeabilidade

Entre os objetivos deste sistema, destaca-se o subsídio regulatório para as bioisenções, ou seja, para a possibilidade de substituição dos estudos *in vivo*, tais como bioequivalência e/ou biodisponibilidade relativa, por ensaios *in vitro*, que permitam conclusões sobre a solubilidade e permeabilidade dos fármacos (EMA, 2010; FDA, 2017; WHO, 2015).

Dessa forma, a bioisenção, baseada no SCB, pode ser utilizada para o registro de um novo medicamento genérico, sem que seja realizado o estudo de bioequivalência. Cabe ressaltar que, a política de genéricos possui o intuito de assegurar, a toda população brasileira, o acesso a produtos farmacêuticos de qualidade, que sejam eficazes e seguros, a um menor custo (BRASIL, 2002).

Segundo a *Food and Drug Administration* (FDA), a *European Medicines Agency* (EMA) e a *Organização Mundial da Saúde* (OMS), um fármaco é passível de bioisenção desde que pertença a classe I ou III (EMA, 2010; FDA, 2017; WHO, 2015). No Brasil, somente fármacos classe I podem ser bioisentos. Além disso, cabe ressaltar que a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) atualiza periodicamente a “Lista de fármacos candidatos à bioisenção baseada no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)”, por se tratar de uma lista dinâmica, na qual constantemente são acrescentados novos fármacos

passíveis de bioisenção. Atualmente, a relação de fármacos está contida na Instrução Normativa nº 10, de 29 de setembro de 2016 (BRASIL, 2016).

Para serem passíveis de bioisenção, fármacos classe I devem cumprir com os requisitos de dissolução rápida (no mínimo 85 % do fármaco é liberado em até 30 minutos) ou muito rápida (no mínimo 85 % do fármaco é liberado em até 15 minutos) a partir da forma farmacêutica, em meios tamponados que mimetizem os líquidos do trato gastrointestinal (preferencialmente meios com pH 1,2; pH 4,5 e pH 6,8). Além disso, não devem conter em sua formulação excipientes que afetem criticamente a velocidade e a extensão de absorção do fármaco (EMA, 2010; BRASIL, 2011; FDA, 2017; WHO, 2015).

Fármacos classe III, por sua vez, além de apresentarem dissolução muito rápida a partir da forma farmacêutica, devem estar contidos em formulação qualitativamente igual e quantitativamente muito semelhante à composição do medicamento referência (EMA, 2010; FDA, 2017; WHO, 2015).

Cabe ressaltar que fármacos candidatos à bioisenção devem, ainda, ser estáveis no trato gastrointestinal e não apresentar índice terapêutico estreito (EMA, 2010; BRASIL, 2011; FDA, 2017; WHO, 2015).

Diante da grande vantagem do processo de bioisenção para a produção de medicamentos genéricos eficazes e seguros, com maior rapidez e baixo custo, foi realizada uma busca na literatura sobre as características biofarmacêuticas da cloroquina (CQ), especialmente sob a forma de sal difosfato, e do sulfato de hidroxicloroquina (HCQ).

DISSOLUÇÃO

Segundo a Farmacopeia Brasileira 6ª Edição (2019), a dissolução do difosfato de CQ a partir de comprimidos deve ser determinada empregando um único ponto de coleta. As condições descritas consistem na utilização de 900 mL de água a $37,0 \pm 0,5$ °C e aparelhagem pá sob velocidade de rotação de 100 rpm, durante 45 minutos. O medicamento cumpre os requisitos de qualidade do teste de dissolução se não menos que 75 % da quantidade declarada no rótulo se dissolver em até 45 minutos.

Na literatura foi possível encontrar apenas quatro estudos do perfil de dissolução (estudo de dissolução que possibilita traçar um gráfico de quantidade de fármaco dissolvido em função do tempo, realizado em condições específicas) de comprimidos contendo 250 mg de difosfato de CQ equivalente a 150 mg de CQ base (SHAH et al., 1992; TAJECADEH; ROUINI; GHARECOLCHIAN, 1995; JAYANATHI et al., 1999; RISHA et al., 2002). Cabe ressaltar que três destes estudos foram realizados empregando condições experimentais

semelhantes àquelas descritas na Farmacopeia Brasileira 6ª ed. (2019), destacando-se a água como meio de dissolução.

O primeiro estudo avaliou o processo de dissolução de medicamentos de dois diferentes fabricantes (A e B). O produto proveniente do fabricante A apresentou dissolução do fármaco mais lenta quando comparado com o produto do fabricante B. O primeiro atingiu 100 % de liberação do fármaco em 45 minutos, enquanto o segundo necessitou de apenas 30 minutos para atingir 100 % de liberação (SHAH et al., 1992).

No segundo estudo, desenvolvido por Tajecadeh; Rouini; Gharecolchian (1995), foi avaliado o perfil de dissolução do medicamento teste frente ao medicamento referência (Resochin®). Ambos os medicamentos avaliados apresentaram 100 % de fármaco liberado em até 30 minutos.

O terceiro estudo avaliou a estabilidade de comprimidos provenientes de sete diferentes fabricantes. Dentre os testes utilizados para o monitoramento da estabilidade dos produtos, o perfil de dissolução foi empregado e avaliado nos tempos 0, 3 e 6 meses. No tempo 0, todos os produtos apresentaram porcentagem de liberação superior a 90 % em até 45 minutos (RISHA et al., 2002).

Por fim, o quarto estudo, avaliou o perfil de dissolução de medicamentos de dois diferentes fabricantes, utilizando como condições experimentais: aparelho I (cesta); 900 mL de ácido clorídrico 0,1 N, ajustado para pH 1,2 e agitação de 75 rpm. Sob essas condições, a porcentagem de liberação do fármaco foi cerca de 80 % em 30 minutos, para ambos os medicamentos analisados (JAYANATHI et al., 1999).

Os dados provenientes dos quatro estudos obtidos da literatura estão compilados na Tabela 1.

Tabela 1. Condições experimentais e resultados obtidos a partir da avaliação do perfil de dissolução de comprimidos contendo 250 mg de difosfato de cloroquina (equivalente a 150 mg base).

Estudo	Medicamento	Condições do teste	Liberação do fármaco	Referência
1	Fabricante A	Aparelho II (pá)	100 % em 45 minutos	SHAH et al., 1992
	Fabricante B		100 % em 30 minutos	
2	Teste Referência (Resochin®)	900 mL de água Agitação de 100 rpm	100 % em 30 minutos (ambos)	TAJECADEH; ROUINI; GHARECOLCHIAN, 1995
3	Sete diferentes fabricantes		Superior a 90 % em até 45 minutos (todos)	RISHA et al., 2002
4	Fabricante A	Aparelho I (cesta) 900 mL de ácido clorídrico 0,1 N, ajustado para pH 1,2 Agitação de 75 rpm	Cerca de 80 % em 30 minutos (ambos)	JAYANATHI et al., 1999
	Fabricante B			

É sabido que sob condições de alta temperatura e umidade, o difosfato de CQ pode passar por alterações polimórficas ou cristalinas que diminuem sua solubilidade, o que impacta diretamente no processo de dissolução (AERDE et al., 1984; BJÅEN et al., 1993; RISHA et al., 2002).

Além disso, as condições de armazenamento em altas temperaturas e umidade também podem ocasionar interações entre os excipientes presentes na formulação e/ou entre o fármaco e os excipientes, promovendo a redução da velocidade de dissolução do fármaco a partir da forma farmacêutica (RISHA et al., 2002).

O risco de bioinequivalência de comprimidos contendo difosfato de CQ, devido a interações de excipientes, é descrito na monografia intitulada: “*Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms Based on Biopharmaceutics Classification System (BCS) Literature Data: Chloroquine Phosphate, Chloroquine Sulfate, and Chloroquine Hydrochloride*”, publicada por pesquisadores colaboradores da Federação Internacional Farmacêutica (*International Pharmaceutical Federation – FIP*) (VERBEECK et al., 2005). Dessa forma, ressalta-se a importância da adequada padronização dos excipientes na formulação, de modo a reduzir os impactos no processo de liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica.

As características biofarmacêuticas da CQ na forma de sais de difosfato, sulfato e cloridrato, estão sumarizadas nesta monografia e como critério para a determinação da velocidade de dissolução, os autores descrevem o método farmacopeico para avaliação do processo de dissolução e relatam o estudo realizado por Risha e colaboradores (2002), o qual já foi anteriormente citado. Entretanto, ressaltam que, a água, como meio de dissolução é muito sensível às mudanças de pH. Dessa forma, considerando a baixa solubilidade da CQ e seus sais em valores alcalinos de pH, o uso de meio tamponado, com pH correspondente aos limites da solubilidade da CQ na água, parece ser mais discriminatório. Ou seja, meios tamponados no estudo de dissolução proporcionariam a detecção de mudanças no produto que poderiam afetar o seu comportamento *in vivo* (VERBEECK et al., 2005).

Isto é possível devido à característica básica apresentada pelo fármaco. A utilização de meios com valores de pH abaixo do pK_a de fármacos com sítios básicos fazem com que estes estejam na sua forma protonada. O difosfato de CQ, por exemplo, apresenta dois sítios básicos com valores de pK_a de 8,1 e 10,4 a 37 °C (TARIQ; AL-BADR, 1984; VERBEECK et al., 2005), ou seja, em meios de dissolução com valores de pH de 1,2, 4,5 e pH 6,8, o fármaco se apresenta praticamente 100 % nas formas protonadas. Assim, meios que mimetizam os líquidos do trato gastrointestinal proporcionariam maior caráter discriminatório ao estudo de dissolução.

Com relação ao sulfato de HCQ, segundo a Farmacopeia Americana 32ª ed. (2009), o processo de dissolução de comprimidos contendo este fármaco deve ser realizado

utilizando 900 mL de água, aparelho II (pá) sob velocidade de rotação de 50 rpm durante 60 minutos. Como especificação tem-se que não menos que 70 % da quantidade declarada se dissolvem em 60 minutos.

Shah e colaboradores (1992) avaliaram o processo de dissolução de comprimidos contendo sulfato de HCQ (equivalente a 155 mg de HCQ) empregando a água e o HCl 0,1 N como meios de dissolução e diferentes velocidades de rotação. O produto apresentou velocidade de dissolução um pouco mais rápida em água do que em HCl 0,1 N. O perfil de dissolução a 50 rpm exibiu liberação do fármaco em 30 minutos um pouco mais lenta (cerca de 50 % e 40 % em água e HCl 0,1 N, respectivamente) que a 75 rpm (cerca de 60 % e 50 % em água e HCl 0,1 N, respectivamente) nos dois meios avaliados. No entanto, aparentemente, não houveram diferenças entre os perfis de dissolução dos produtos ao se aplicar as velocidades de 75 e 100 rpm (SHAH et al., 1992).

A dissolução *in vitro* de comprimidos de PLAQUENIL[®], usando o aparelho pá, foi muito rápida em condições de pH ácido. Isso indica que o processo de liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica foi completo em 15 minutos (MCLACHLAN et al., 1993).

Para fins de classificação biofarmacêutica e avaliação de uma possível bioisenção, um estudo detalhado do processo de liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica em meios tamponados, preferencialmente: fluido gástrico simulado sem enzimas (FGSSE pH 1,2), tampão acetato (TA pH 4,5) e fluido intestinal simulado sem enzimas (FISSE pH 6,8), ainda se faz necessário. Uma vez que somente por meio da análise do perfil de dissolução dos medicamentos contendo um dos sais de CQ ou sulfato de HCQ, nestes meios tamponados, será possível avaliar o impacto deste processo na absorção do fármaco no organismo.

SOLUBILIDADE

Para fins de classificação biofarmacêutica, a solubilidade de um fármaco deve ser definida por meio do cálculo da razão dose/solubilidade (D/S), que consiste na razão entre a maior dose do fármaco, que pode ser administrada em uma única vez, e a sua solubilidade determinada experimentalmente (EMA, 2010; BRASIL, 2011; FDA, 2017; WHO, 2015).

Um fármaco é considerado altamente solúvel quando apresenta razão D/S igual ou inferior a 250 mL em meios tamponados, preferencialmente: FGSSE (pH 1,2), TA (pH 4,5) e FISSE (pH 6,8) a 37 °C (EMA, 2010; BRASIL, 2011; FDA, 2017; WHO, 2015).

A estimativa de volume de 250 mL é proveniente de protocolos de estudos de bioequivalência que prescrevem a administração de um medicamento em jejum com um copo contendo água para voluntários humanos (FDA, 2017).

Na literatura não há relatos do valor da razão D/S para a CQ na sua forma livre e tampouco na forma de sais. Foi possível encontrar, apenas, dados de solubilidade avaliados de acordo com os critérios farmacopeicos (expressos em partes), ou seja, relaciona o número de mililitros de solvente necessários para solubilizar 1 grama de sólido (BRASIL, 2019).

Segundo Verbeeck e colaboradores (2005) tanto o difosfato de CQ quanto o sulfato de CQ são facilmente solúveis em água. Seguindo os critérios farmacopeicos (BRASIL, 2019), isto significa que ambos os sais de CQ apresentam solubilidade em água entre 1000 mg/mL e 100 mg/mL. Por sua vez, para o cloridrato de CQ não foram relatados quaisquer valores de solubilidade.

Apesar dos valores estimados para a solubilidade dos sais de CQ indicarem alta solubilidade em água, este parâmetro, segundo o SCB, deve ser avaliado nos meios FGSSE (pH 1,2), TA (pH 4,5) e FISSE (pH 6,8) a 37 °C e proporcionar o cálculo da razão D/S (EMA, 2010; BRASIL, 2011; FDA, 2017; WHO, 2015).

Lindenberg; Koop; Dressman (2004) classificaram fármacos contidos na lista da OMS, segundo os critérios biofarmacêuticos, a partir de dados coletados na literatura. Dentre eles, o difosfato de CQ, o qual foi considerado altamente solúvel.

De acordo com Kasim e colaboradores (2004) o difosfato de CQ também é considerado altamente solúvel. Para fins de cálculo da razão D/S foi considerada a dose de 150 mg e a solubilidade de 100 mg/mL (valor reportado para a solubilidade em água do fármaco).

Ao analisar os protocolos estabelecidos para a administração do difosfato de CQ em pacientes com sinais e sintomas leves e moderados de COVID-19, verificou-se que 500 mg é a maior dose de fármaco a ser administrado de uma única vez (posologia prescrita: 1º dia – 500 mg de 12h/12h; 2º ao 5º – 500 mg de 24h/24h) (NOTA INFORMATIVA Nº 9/2020-SE/GAB/SE/MS). Adotando-se esta posologia e a solubilidade de 100 mg/mL, estima-se que o difosfato de CQ apresente razão D/S igual a 5 mL, valor este, bem inferior a 250 mL, critério de classificação segundo o SCB.

Com relação a HCQ, Ferraz (2014) avaliou o grau de solubilidade de 1 g de sulfato de HCQ em diferentes solventes: água, solução aquosa de tampão fosfato em diferentes valores de pH, clorofórmio, acetona, álcool etílico, álcool metílico, n-hexano e acetonitrila.

Em água e em soluções tamponadas com pH 2,0, pH 6,6, pH 7,0, pH 7,6 e pH 8,0, 1 g de sulfato de HCQ foi solubilizado completamente em volume de solução inferior a 1 mL (FERRAZ, 2014), indicando, portanto, uma solubilidade de 1000 mg/mL (valor 10 vezes superior a solubilidade do difosfato de CQ em água).

Considerando os protocolos estabelecidos para a administração do sulfato de HCQ em pacientes com sinais e sintomas leves, moderados e graves de COVID-19, verificou-se que

400 mg é a maior dose de fármaco a ser administrado de uma única vez (posologia prescrita: 1º dia – 400 mg de 12h/12h; 2º ao 5º – 400 mg de 24h/24h) (NOTA INFORMATIVA Nº 9/2020-SE/GAB/SE/MS). A partir desta posologia e do valor de solubilidade de 1000 mg/mL, estima-se que o sulfato de HCQ apresente razão D/S igual a 0,4 mL.

Apesar desta estimativa, na literatura há um relato de estudo da solubilidade em equilíbrio do sulfato de HCQ empregando o método da agitação orbital em frascos e seguindo as diretrizes dos guias de estudos para a bioisenção (PLÖGER; HOFSSÄSS; DRESSMAN, 2018).

De acordo com os autores, o sulfato de HCQ apresentou solubilidade igual ou superior a 4,83 mg/mL no FGSSE (pH 1,2) e igual ou superior a 4,97 mg/mL no TA (pH 4,5) e no FISSE (pH 6,8). A partir desses resultados, os pesquisadores calcularam a razão D/S, utilizando a dose de 200 mg e obtendo-se valores de D/S inferiores a 54 mL. Tais valores comprovaram a alta solubilidade do sulfato de HCQ segundo o SCB (PLÖGER; HOFSSÄSS; DRESSMAN, 2018).

Cabe ressaltar que a razão D/S foi calculada utilizando-se 200 mg, enquanto que 400 mg é a dose a ser administrada de uma única vez em pacientes com sinais e sintomas leves, moderados e graves de COVID-19, segundo o Ministério da Saúde (NOTA INFORMATIVA Nº 9/2020-SE/GAB/SE/MS). Entretanto, mesmo com a elevação da dose, os valores obtidos para D/S permaneceram inferiores a 250 mL, sendo D/S igual ou inferior a 82,8 mL para FGSSE (pH 1,2) e D/S igual ou inferior a 80,5 mL para TA (pH 4,5) e FISSE (pH 6,8).

A dose impacta diretamente no cálculo da razão D/S e, conseqüentemente, na classificação biofarmacêutica. No caso específico do sulfato de HCQ, o aumento da dose parece não impactar na classificação biofarmacêutica continuando, portanto, como uma substância altamente solúvel, pertencendo a classe I ou III do SCB.

Com relação a CQ e seus sais, conforme já mencionado, os valores de solubilidade, para fins de classificação biofarmacêutica, devem ser obtidos em meios tamponados que mimetizem o trato gastrointestinal, a partir de protocolos experimentais padronizados nos guias das Agências Regulatórias para estudos de caracterização biofarmacêutica. Somente a partir desses resultados seria possível definir com precisão a solubilidade da CQ (base livre ou na forma de sais), com o intuito de determinar a sua classe biofarmacêutica.

POLIMORFISMO

Impacto na solubilidade e na velocidade de dissolução

Conforme mencionado no Informativo nº 01 (Informações químicas e físico-químicas), tanto o difosfato de CQ quanto o sulfato de HCQ apresentam duas formas polimórficas, cada (MOFFAT; OSSELTON; WIDDOP, 2011; BRASIL, 2019).

Polimorfismo é a capacidade de um fármaco existir em dois ou mais arranjos moleculares. É sabido que a existência de formas polimórficas de um mesmo fármaco pode alterar as características físico-químicas, afetando diretamente, dentre outros parâmetros, a biodisponibilidade do fármaco. Isto ocorre, quando há uma dependência entre a velocidade de dissolução *in vivo* e a velocidade de absorção. A concentração plasmática máxima (C_{max}) e o tempo necessário para obtê-la (t_{max}) são os principais parâmetros impactados *in vivo*. Diante disso, a identificação e a escolha do polimorfo adequado à atividade terapêutica é fundamental (SINGHAL; CURATOLO, 2004; BUENO; RECH, 2011).

Polimorfos com grande diferença entre os valores de energia livre apresentam comportamentos farmacocinéticos distintos. Este fato é reflexo da solubilidade, uma vez que a forma mais estável (menor energia livre) possui menor solubilidade, resultando, geralmente, em baixa velocidade de dissolução e, conseqüentemente, em baixa velocidade de absorção (SINGHAL; CURATOLO, 2004).

Entretanto, para fármacos, como o difosfato de CQ e o sulfato de HCQ, nos quais se espera que a dose seja muito solúvel nos líquidos gastrointestinais (fármacos classe I ou III), pode não haver diferença entre as áreas sob a curva (ASC) da concentração plasmática em função do tempo dos polimorfos, pois a solubilidade não é etapa limitante no processo de absorção (SINGHAL; CURATOLO, 2004).

Quatro formas sólidas do difosfato de CQ são reportadas. As duas principais formas polimórficas são identificadas como um hidrato e uma forma anidra. A conversão do hidrato na forma anidra ocorre por meio do aumento de temperatura (evidenciado por análise térmica), enquanto a conversão da forma anidra na hidratada é possível ao estocar o fármaco em condições de elevada umidade. Entretanto, os autores verificaram que mudanças na umidade relativa levaram à formação de um segundo hidrato e a compressão da matéria-prima resultou na formação de mais uma modificação de cristal. Portanto, os procedimentos empregados na preparação da matéria-prima, bem como no manuseio das amostras durante a produção do medicamento, poderão influenciar o número e a proporção de formas polimórficas em um lote de difosfato de CQ (AERDE et al., 1984; BJÅEN et al., 1993).

As formas polimórficas do difosfato de CQ não apresentaram diferenças cristalográficas (evidenciadas pela análise em difração de raios X) e tampouco diferenças espectrais (evidenciadas por análises de espectros no infravermelho e Raman). Diferenças entre as formas sólidas foram observadas durante a análise térmica, devido ao fato da forma anidra, apenas, ser formada durante a fase de transição, com a elevação de temperatura (AERDE et al., 1984; FURUSETH et al., 1990; BJÅEN et al., 1993). Dessa forma, em

condições controladas de armazenamento, como temperatura e umidade, não haverá formação da forma anidra, prevalecendo assim, a forma hidratada.

Entre as formas hidratadas relatadas para o difosfato de CQ foram observadas apenas diferenças na estrutura dos cristais. Enquanto a forma monohidratada apresentou cristais com superfícies limpas e uniformes, o hidrato de baixo ponto de fusão formado mostrou cristais com superfícies porosas e irregulares (BJÅEN et al., 1993). Apesar desta diferença, fármacos que apresentam polimorfismo morfológico (diferenças na estrutura dos cristais) apresentam a mesma estabilidade e solubilidade, porém diferem em relação aos padrões cristalinos devido às interações do tipo soluto-solvente no processo de crescimento de cristais (OLIVEIRA et al., 2010).

Conforme relatado no Informativo nº 04 (Medicamentos disponíveis e seus excipientes), o difosfato de CQ na forma de monohidrato é a utilizada na produção de comprimidos contendo este fármaco, sendo sua estrutura cristalina classificada como monoclinica (PRESTON; STEWART, 1970; FURUSETH et al., 1990; BJÅEN et al., 1993). Enquanto que, para o sulfato de HCQ, de acordo com a análise da bula dos medicamentos, é sugerido que a forma anidra seja empregada na produção de comprimidos contendo este fármaco (Informativo nº 04 – Medicamentos disponíveis e seus excipientes).

Diante disso, é importante enfatizar que apesar da alta solubilidade esperada para o fármaco, o que reduziria o impacto das formas cristalinas utilizadas na produção do medicamento, deve-se ter em mente que modificações da forma sólida podem impactar em características como compressibilidade (propriedades plásticas e elásticas). Por isso, deve-se proceder com a caracterização e padronização dos processos utilizados na produção de medicamentos contendo difosfato de CQ ou sulfato de HCQ (BJÅEN et al., 1993).

PERMEABILIDADE

Para fins de classificação biofarmacêutica, um fármaco é considerado altamente permeável quando apresenta biodisponibilidade absoluta sistêmica ou extensão de absorção em humanos igual ou superior a 85 % (EMA, 2010; BRASIL, 2016; FDA, 2017; WHO, 2015).

Na literatura há poucos relatos sobre a permeabilidade da CQ e seus sais, sendo que a grande maioria avalia este parâmetro por meio do logaritmo do coeficiente de partição apresentado pela molécula (LogP).

O coeficiente de partição é a capacidade que o composto tem de se particionar entre solventes de natureza lipídica (usado para mimetizar a membrana) e água, e se

correlaciona bem com a capacidade de atravessar a membrana intestinal, ou seja, com o grau de absorção apresentado pela substância. Muitas vezes é possível encontrar também, dados de LogD, que consiste no logaritmo do coeficiente de partição da substância entre um solvente de natureza lipídica e um meio tamponado (ASHFORD, 2005).

Para a CQ na forma de base livre foi relatado um LogP (dados experimentais) de 3,73 e um cLogP (calculado a partir de programas computacionais) de 5,06 (KASIM et al., 2004; VERBEECK et al., 2005). Em pH 7,2 a 37 °C, o LogD encontrado foi de 0,83 (VERBEECK et al., 2005).

Ferrari e Cutler (1991) avaliaram o grau de partição da CQ e da HCQ entre diferentes solventes orgânicos (hexano, octanol, mistura de hexano e octanol (95:5)) e água a 25 °C. Em todos os casos, o valores de LogP para a CQ foram superiores a 2,00, enquanto que para a HCQ os valores variaram de -0,28 a 3,54, sendo este último relativo a partição octanol/água (geralmente utilizada para análise biofarmacêutica) (FERRARI; CUTLER, 1991).

Ao se utilizar o LogP como critério para definir a permeabilidade de fármacos, em geral, o metoprolol é utilizado como fármaco controle de alta permeabilidade. Ou seja, fármacos que apresentam valores para LogP superiores a 1,72 (LogP do metoprolol) são considerados altamente permeáveis (TAKAGI et al., 2006). Diante disso, todos os valores de LogP relatados para a CQ e HCQ indicam a alta permeabilidade destes fármacos.

Entretanto, apesar do LogP ser um parâmetro que auxilia na avaliação da permeabilidade de fármacos, para fins de classificação biofarmacêutica a medida da permeabilidade baseia-se indiretamente na extensão da absorção, ou seja, na fração da dose absorvida, de um fármaco em seres humanos e, diretamente na medida da velocidade de transferência de massa através da membrana intestinal (EMA, 2010; WHO, 2015; FDA 2017).

Alternativamente, métodos que não envolvem seres humanos, tais como, perfusão intestinal *in vivo* ou *in situ* em humanos ou modelo animal adequado (geralmente, ratos) e métodos de permeabilidade *in vitro* utilizando tecidos intestinais ou monocamadas de células epiteliais, são capazes de prever a extensão da absorção do fármaco (WHO, 2015; FDA 2017).

Somente um estudo, que avalia a permeabilidade do difosfato de CQ por método alternativo recomendado, foi encontrado na literatura. Este objetivou avaliar a permeabilidade do difosfato de CQ empregando células Caco-2 (células de adenocarcinoma de cólon humano que, em condições adequadas de cultivo *in vitro*, são capazes de se diferenciarem em células intestinais de absorção). Os resultados obtidos no estudo permitiram concluir que a CQ atravessa a barreira gastrointestinal por difusão

passiva. Apesar da fração da forma neutra, necessária para a partição em membranas biológicas, ser muito baixa, a extensa área do trato gastrointestinal provavelmente compensa esta limitação, uma vez que a biodisponibilidade oral foi relatada como quase completa (AUGUSTIJNS, 1996).

Com relação à classificação biofarmacêutica, os dados de permeabilidade para o difosfato de CQ, com base nos experimentos empregando células Caco-2, são inconclusivos, pois o método exibe alta variabilidade interlaboratorial e requer validação utilizando fármacos controle para garantir confiabilidade aos resultados obtidos (AUGUSTIJNS, 1996; VERBEECK et al., 2005).

O sulfato de HCQ apresenta absorção oral e intestinal variáveis com biodisponibilidade de aproximadamente 74 %. A CQ (administrada sob a forma de sal fosfato), por sua vez, é relatada como uma substância bem absorvida quando administrada por via oral, apresentando biodisponibilidade de aproximadamente 80 % (KRISHNA; WHITE, 1996). Entretanto, conforme relatado no Informativo nº 02 (Mecanismo de ação e farmacocinética) há variação considerável nos dados. A biodisponibilidade oral do sulfato de HCQ pode variar entre 55 e 87 % (TETT et al., 1989; TETT et al., 1992). Enquanto para o difosfato de CQ os valores de biodisponibilidade oral variam entre 67 a 114 % (GUSTAFSSON et al., 1983; VERBEECK et al., 2005).

Cabe ressaltar ainda, que a CQ é substrato para glicoproteína P (transportador de efluxo), o que pode impactar diretamente na biodisponibilidade oral do fármaco (TAKAGI et al., 2006).

Lindenberg; Koop; Dressman (2004) e Kasim e colaboradores (2004) classificaram fármacos contidos na lista da Organização Mundial da Saúde (OMS), a partir de dados coletados na literatura. Dentre eles, o difosfato de CQ, o qual foi considerado altamente permeável devido aos altos valores de LogP apresentados.

Apesar disso, diante de todo o exposto, não há dados suficientes que possam subsidiar a classificação destes fármacos quanto a permeabilidade, uma vez que não há estudos empregando os métodos preconizados pelas agências regulatórias para avaliação deste parâmetro.

CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA

De acordo com os dados obtidos da literatura (Tabela 2), tanto os sais de CQ quanto o sulfato de HCQ são considerados fármacos altamente solúveis, se enquadrando portanto, na classe I ou III do SCB (KASIM et al., 2004; LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2005;

TAKAGI et al., 2006; BENET; BENET; BROCCATELLI; OPREA, 2011; PLÖGER; HOFSSÄSS; DRESSMAN, 2018; PAULI et al., 2020).

Tabela 2. Características biofarmacêuticas da CQ e HCQ compiladas a partir de dados obtidos da literatura.

Fármaco	Dose (mg)	Solubilidade (mg/mL)	LogP ¹	cLogP ²	SCB Classe ³	Referência
CQ	500	100	4,63	5,06	I	BENET; BROCCATELLI; OPREA, 2011
	150	-	-	4,69	I	SHAWAHNA; RAHMAN, 2011
	100 (difosfato)	-	-	-	I	LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2005
	150 (sulfato)	-	-	-	I	LINDENBERG; KOPP; DRESSMAN, 2005
	150 (difosfato)	100	3,73	5,06	I	KASIM et al., 2004
Sulfato de HCQ	200	200	-	4,12	I	BENET; BROCCATELLI; OPREA, 2011
	200	≥ 4,83 em FGSSE (pH 1,2) ≥ 4,97 em TA (pH 4,5) ≥ 4,97 em FISSE (pH 6,8)	-	-	I ou III	PLÖGER; HOFSSÄSS; DRESSMAN, 2018

¹ Logaritmo do coeficiente de partição obtido experimentalmente

² Logaritmo do coeficiente de partição obtido por meio de cálculos computacionais

³ Classificação de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica

Segundo Verbeeck e colaboradores (2005), embora não haja dados aprofundados sobre as características de solubilidade e permeabilidade da CQ e seus sais, estes parâmetros não parecem limitar o processo de absorção do fármaco no organismo. Adicionalmente e ainda de acordo com os autores, há dificuldades associadas à realização de estudos de bioequivalência de medicamentos contendo a CQ e seus sais, tais como a longa meia-vida de eliminação plasmática apresentada pelo fármaco, requerendo assim, longos períodos de “washout” (VERBEECK et al., 2005).

Levando em conta estes dois fatores, a bioisenção seria recomendada para a CQ e seus sais. Entretanto, os autores destacam que os excipientes utilizados na produção de formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata contendo CQ devem estar entre os seguintes listados (VERBEECK et al., 2005):

- **Difosfato de CQ:** celulose microcristalina, gelatina, hipromelose, lactose anidra ou monohidratada, macrogol, estearato de magnésio, amido de

milho, amido pré-gelatinizado, amido glicolato de sódio, sílica hidratada, talco e dióxido de titânio (VERBEECK et al., 2005).

- **Sulfato de CQ:** gelatina, estearato de magnésio, sacarose, sílica hidratada e amido de trigo (VERBEECK et al., 2005).

Em vista da indicação terapêutica crítica da CQ, ou seja, na utilização deste fármaco em doenças graves, supõe-se que as autoridades de registro tenham estudos que formulações contendo os excipientes listados são bioequivalentes ao inovador (VERBEECK et al., 2005).

Apesar disso, conforme já relatado no Informativo nº 04 (Medicamentos disponíveis e seus excipientes), de acordo com a agência regulatória da Alemanha (*Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte – BfArM*), a CQ não deve ser passível de bioisenção devido a questões relacionadas ao seu índice terapêutico e sua farmacocinética (GLEITER et al., 1998; VERBEECK et al., 2005).

Dessa forma, embora os fatores relatados sejam critérios para a bioisenção de novos medicamentos do teste de bioequivalência previamente ao registro, a bioisenção não é recomendada para a CQ e seus sais, uma vez que, a sua administração está associada a elevados riscos clínicos ao paciente. Conforme relatado anteriormente há grande variabilidade na biodisponibilidade oral do difosfato de CQ e do sulfato de HCQ, o que impacta diretamente no efeito terapêutico do fármaco no organismo.

Ademais todo o processo produtivo e escolha de excipientes devem ser rigorosamente controlados e padronizados, a fim de gerar produtos com qualidade e que apresentem o mesmo perfil de dissolução. Cabe ressaltar que, além da alta solubilidade, fármacos para serem passíveis de bioisenção devem apresentar dissolução rápida ou muito rápida a partir da forma farmacêutica. Tal condição, além de depender das características do fármaco, está diretamente relacionada com os excipientes empregados na formulação.

Referências

AERDE, P. V.; REMON, J. P.; DE RUDDER, R.; VAN SEVEREN, R.; BRAECKMAN, P. Polymorphic behavior of chloroquine diphosphate. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. v. 36, p. 190-191, 1984. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1984.tb06937.x>

AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharmaceutical Research*. v. 12, p. 413-420, 1995. <https://doi.org/10.1023/a:1016212804288>

ASHFORD, M. Biodisponibilidade – fatores físico-químicos e relacionados à forma farmacêutica. In: AULTON, M. E. *Delineamento de Formas Farmacêuticas*. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 245-263.

AUGUSTIJNS, P. F. Uptake and transport characteristics of chloroquine in an in-vitro cell culture system of the intestinal mucosa, Caco-2. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. v. 48, p. 277-280, 1996. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1996.tb05916.x>

BENET, L. Z.; BROCCATELLI, F.; OPREA, T. I. BDDCS applied to over 900 drugs. *The AAPS Journal*. v. 13, n. 04, p. 519-547, 2011. <https://doi.org/10.1208/s12248-011-9290-9>

BJÅEN, A. K. B.; NORD, K.; FURUSETH, S.; ÅGREN, T.; TØNNESEN, H. H.; KARLSEN, J. Polymorphism of chloroquine diphosphate. *International Journal of Pharmaceutics*. v. 92, p. 183-189, 1993. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(93\)90278-N](https://doi.org/10.1016/0378-5173(93)90278-N)

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. NOTA INFORMATIVA Nº 9/2020-SE/GAB/SE/MS. Acesso: 02 de junho de 2020. Disponível em:

<https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/May/21/Nota-informativa---Orienta----es-para-manuseio-medicamentoso-precoce-de-pacientes-com-diagn--stico-da-COVID-19.pdf>

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Farmacopeia Brasileira*. Brasília: Anvisa, 2019.

BRASIL. Instrução Normativa nº 10, de 29 de setembro de 2016. *Determina a publicação da “Lista de fármacos candidatos à bioisenção baseada no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)” e dá outras providências*. Diário Oficial da União, Brasília, 30 de

setembro de 2016. Acesso: 30 de março de 2020. Disponível em: [http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/aprovada-nova-lista-de-farmacos-candidatos-a-bioisencao/219201/pop up? 101 INSTANCE FXrpx9qY7FbU viewMode=print& 101 I NSTANCE FXrpx9qY7FbU languageId=pt BR](http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/aprovada-nova-lista-de-farmacos-candidatos-a-bioisencao/219201/pop_up?_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_viewMode=print&_101_INSTANCE_FXrpx9qY7FbU_languageId=pt_BR)

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 37, de 3 de agosto de 2011. “*Dispõe sobre o guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa/bioequivalência e dá outras providências.*” Diário Oficial da União, Brasília, 2 de agosto de 2011. Acesso: 30 de março de 2020. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2011/res0037_03_08_2011.html

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Medicamentos genéricos: oriente-se*. Brasília, 2002. 31 p. Acesso: 30 de março de 2020. Disponível em: http://idisa.org.br/img/File/genericos_cartilha%5b1%5d.pdf

BUENO, M. M.; RECH, N. Insumos Farmacêuticos – Aspectos Técnicos Científicos e Regulatórios. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. *Biofarmacotécnica*. São Paulo: Guanabara Koogan, 2011. p. 204-211.

EMA – European Medicines Agency. Guideline on the investigations of bioequivalence. London, 2010. Acesso: 30 de março de 2020. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf

FERRARI V.; CUTLER, D. J. Simulation of kinetic data on the influx and efflux of chloroquine by erythrocytes infected with *Plasmodium falciparum*. *Biochemical Pharmacology*. v. 42, p. 167–179, 1991. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(91\)90407-v](https://doi.org/10.1016/0006-2952(91)90407-v)

FERRAZ, Leslie Raphael de Moura. *Aplicação de quality by design no estudo de pré-formulação farmacêutica do sulfato de hidroxiclороquina*. 2014. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2014.

FDA – Food and Drug Administration. Guidance for Industry: waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System. Rockville: FDA, 2017. Acesso: 30 de

março de 2020. Disponível em:
<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/Guidances/ucm070246.pdf>

FURUSETH, S.; KARLSEN, J.; MOSTAD, A.; RØMMING, C.; SALMÉN, R.; TØNNESEN, H. H. N⁴-(7-Chloro-4-quinolinyl)-N¹,N¹-diethyl-1,4-pentanediamine. An X-ray diffraction study of chloroquine diphosphate hydrate. *Acta Chemica Scandinavica*. v. 44, p. 741-745, 1990.

GLEITER, C. H.; KLOTZ, U., KUHLMANN, J., BLUME, H.; STANISLAUS, F.; HARDER, S.; PAULUS, H.; POETHKO-MULLER, C.; HOLZ-SLOMCZYK, M. When are bioavailability studies required? A German proposal. *Journal of Clinical Pharmacology*. v. 38, n. 10, p. 904–911, 1998. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1998.tb04385.x>

GUSTAFSSON, L. L.; WALKER, O.; ALVAN, G.; BEERMANN, B.; ESTEVEZ, F.; GLEISNER, L.; LINDSTROM, B.; SJOQVIST, F. Disposition of chloroquine in man after single intravenous and oral doses. *British Journal of Clinical Pharmacology*. v. 15, p. 471–479, 1983. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1983.tb01532.x>

JAYANATHI, C.; RISHIRAJ, C.; PATEL, H. B.; RAJAN, D. S.; SURESH, B. Single dose bioequivalence study of two brands of chloroquine phosphate tablets using salivary kinetics. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 61, n. 6, p. 362-365, 1999.

KASIM, N. A.; WHITEHOUSE, M.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; LENNERNÄS, H.; HUSSAIN, A. S.; JUNGINGER, H. E.; STAVCHANSKY, S. A.; MIDHA, K. K.; SHAH, V. P.; AMIDON, G. L. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Molecular Pharmaceutics*. v. 1, n. 1, p. 85-96, 2004. <https://doi.org/10.1021/mp034006h>

KRISHNA, S.; WHITE, N. J. Pharmacokinetics of quinine, chloroquine and amodiaquine. Clinical implications. *Clinical Pharmacokinetics*. v. 30, n. 4, p. 263-299, 1996. <https://doi.org/10.2165/00003088-199630040-00002>

LINDENBERG, M.; KOPP, S.; DRESSMAN, J. B. Classification of orally administered drugs on the World Health Organization Model list of Essential Medicines according to the biopharmaceutics classification system. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. v. 58, n. 2, p. 265–278, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2004.03.001>

MCLACHLAN, A. J.; TETT, S. E.; CUTLER, D. J.; DAY, R. O. Absorption and *in vivo* dissolution of hydroxychloroquine in fed subjects assessed using deconvolution techniques. *British*

Journal of Clinical Pharmacology. v. 36, p. 405-411, 1993. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1993.tb00388.x>

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L.; MUSSEL, W. N.; VIANNA-SOARES, C. D.; PIANETTI, G. A. Análise térmica aplicada à caracterização da sinvastatina em formulações farmacêuticas. *Química Nova*. v. 33, n. 8, p. 1653-1657, 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422010000800007>

PAULI, E.; JOSHI, H.; VASAVADA, A.; BRACKETT, J.; TOWA, L. Evaluation of an immediate-release formulation of hydroxychloroquine sulfate with an interwoven pediatric taste-masking system. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 109, p. 1493-1497, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2019.12.014>

PLÖGER, G. F.; HOFSSÄSS, M. A.; DRESSMAN, J. B. Solubility determination of Active pharmaceutical ingredients which have been recently added to the List of Essential Medicines in the context of the Biopharmaceutics Classification System – Biowaiver. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 107, p. 1478-1488, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2018.01.025>

PRESTON, H. S.; STEWART, J. M. The crystal structure of the antimalarial chloroquine diphosphate monohydrate. *Journal of the Chemical Society D: Chemical Communications*. p. 1142-1143, 1970. <https://doi.org/10.1039/C29700001142>

RISHA, P. G.; SHEWIYO, D.; MSAMI, A.; MASUKI, G.; VERGOTE, G.; VERVAET, C.; REMON, J. P. *In vitro* evaluation of the quality of essential drugs on the Tanzanian market. *Tropical Medicine and International Health*. v. 7, n. 8, p. 701-707, 2002. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3156.2002.00937.x>

SHAH, V. P.; GURBARG, M.; NOORY, A.; DIGHE, S.; SKELLY, J. P. Influence of higher rates of agitation on release patterns of immediate - release drug products. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 81, n. 6, p. 500-503, 1992. <https://doi.org/10.1002/jps.2600810604>

SHAWAHNA, R.; RAHMAN, N. U. Evaluation of the use of partition coefficients and molecular surface properties as predictors of drug absorption: a provisional biopharmaceutical classification of the list of national essential medicines of Pakistan. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 19, n. 2, p. 83-99, 2011.

SINGHAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews*. v. 56, p. 335-347, 2004. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.10.008>

TAJECADDEH, H.; ROUINI, M. R.; GHARECOLCHIAN, A. Relative bioavailability and pharmacokinetic parameters following administration of single oral dose (2×150 mg) of chloroquine tablet in healthy subjects. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. v. 21, n. 20, p. 2393–2402, 1995. <https://doi.org/10.3109/03639049509070878>

TAKAGI, T.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; YAMASHITA, S.; YU, L. X.; AMIDON, G. L. A Provisional Biopharmaceutical Classification of the Top 200 Oral Drug Products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan. *Molecular Pharmaceutics*. v. 3, n. 6, p. 631-643, 2006. <https://doi.org/10.1021/mp0600182>

TARIQ, M.; AL-BADR, A. A. Chloroquine. *Analytical Profiles of Drug Substances*. v. 13, p. 95-125, 1984. [https://doi.org/10.1016/S0099-5428\(08\)60189-6](https://doi.org/10.1016/S0099-5428(08)60189-6)

TETT, S. E.; CUTLER, D. J.; DAY, R. O.; BROWN, K.F. Bioavailability of hydroxychloroquine tablets in healthy volunteers. *British Journal of Clinical Pharmacology*. v. 27, p. 771–779, 1989. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.1989.tb03439.x>

TETT, S. E.; CUTLER, D. J.; DAY, R. O. Bioavailability of hydroxychloroquine tablets assessed with deconvolution techniques. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 81, p. 155–159, 1992. <https://doi.org/10.1002/jps.2600810211>

VERBEECK, R. K.; JUNGINGER, H. E.; MIDHA, K. K.; SHAH, V. P.; BARENDT, D. M. Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms based on biopharmaceutics classification system (BCS) literature data: chloroquine phosphate, chloroquine sulfate, and chloroquine hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 94, n. 7, p. 1389-1395, 2005. <https://doi.org/10.1002/jps.20343>

WHO – WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Forty-ninth report. Geneva, 2015. Acesso: 30 de março de 2020. Disponível em: http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/expert_committee/WHO_TRS_992_web.pdf