

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA  
FACULDADE DE SAÚDE  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

ESTABILIDADE DE CICLOFOSFAMIDA E SUAS PREPARAÇÕES  
PARENTERAIS: UMA REVISÃO

Trabalho de conclusão de curso apresentado a  
faculdade de saúde da Universidade de  
Brasília como pré requisito parcial para a  
obtenção do grau de Farmacêutico.  
Orientadora: Prof. Dra. Patrícia Medeiros-  
Souza



Rildo Costa Farias

Brasília - DF  
2015

Título do artigo: Estabilidade de ciclofosfamida e suas preparações parenterais: uma revisão.

Nome completo dos autores: Rildo Costa Farias, licenciado em química, mestre em físico-química e graduando em farmácia; Patrícia Medeiros de Souza, PharmD, PhD, Professora Adjunta IV de Farmacologia Clínica e Farmácia Hospitalar da Universidade de Brasília, orientadora do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências da Saúde ; Licia Maria Henrique da Mota, MD, PhD, Médica Reumatologista Hospital Universitário de Brasília – Universidade de Brasília, Orientadora do Programa de Pós-graduação em Ciências Médicas da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília; Felipe Ferreira, graduado em farmácia clínica e industrial, especialista em farmácia clínica, professor voluntário da Faculdade de Saúde – UnB.

Local: Faculdade de saúde, Universidade de Brasília – UnB.

Dados para correspondência: Rildo Costa Farias, SHMA, QC 03, Rua M, casa 17, São Sebastião, Brasília, DF; farias.rildo@yahoo.com.br.

Título resumido: Estabilidade de ciclofosfamida e suas preparações parenterais: uma revisão

## Resumo

A ciclofosfamida pertence à classe dos agentes alquilantes e é amplamente utilizada em doenças autoimunes e em muitas formas de câncer, como o câncer de mama. Entre as doenças autoimunes, a maior aplicação de ciclofosfamida é no lúpus eritematoso sistêmico e na artrite reumatoide. O objetivo deste trabalho é fazer uma revisão bibliográfica da estabilidade das preparações parenterais da ciclofosfamida devido a sua indicação em diversas doenças reumatológicas incluindo o lúpus eritematoso sistêmico, Síndrome Fosfolipídica, Dermatomiosite dentre outras doenças. A busca foi feita nas bases de dados *Medline/Pubmed*, *Web of Science* e *SciELO* com as palavras chaves (*stability[Title]*) *AND cyclophosphamide[Title]* e na base *SciELO* foram “estabilidade [Todos os índices] *and* ciclofosfamida [Todos os índices]” e *stability* [Todos os índices] *and cyclophosphamide* [Todos os índices]. Os resultados mostraram que diversos fatores podem interferir na estabilidade da ciclofosfamida diminuindo a biodisponibilidade deste fármaco. Os fatores que podem interferir na concentração sérica da ciclofosfamida incluem processo de fabricação do pó, escolha do excipiente, temperatura, diluente, pH do meio de preparo, umidade, ação da luz e recipiente no qual é realizado o armazenamento do produto antes ou após o preparo para o uso. A parte não-ionizada da ciclofosfamida é a porção farmacologicamente ativa que exerce ação farmacológica. Dentre os aspectos que devem ser observados na manipulação inclui a temperatura. A bolsa manipulada deve ser armazenada a 4 °C e ao abrigo da luz, a estabilidade da preparação pode ser de até 7 dias.

Palavras-chave: Ciclofosfamida; Estabilidade de Medicamentos; Reumatologia.

## Introdução

A ciclofosfamida (CF), ou 2-[bis(2-cloroetil)amino]-2-oxo-1,3,2-oxazafosforinana, foi sintetizada primariamente em 1958 a partir do conhecimento prévio da estrutura e atividade de outros análogos contra o câncer e empregando método similar que em 1954 obteve um composto terapêuticamente inefetivo.(1) O espírito da síntese é direcionado pelo princípio de se encontrar novas substâncias que reúnam o máximo efeito terapêutico com a menor toxicidade e, para tanto, buscava-se por substâncias que não fossem aplicadas na sua forma ativa, mas pela escolha de estrutura química adequada que ao ser metabolizada produzisse a forma ativa no local da ação terapêutica no organismo.(1) Entretanto, a ciclofosfamida é sintetizada na forma de um racemato, principalmente pela via de condensação de derivados aminoálcoois a partir de fosforoamidodicloridrato.(2) O racemato é o composto formado por uma mistura de 50% do enantiômero levogiro (-) e 50% do enantiômero dextrogiro (+). A síntese enantiosseletiva do enantiômero S(-) da CF,(3) bem como a resolução enantiomérica desse enantiômero(4) e de derivados(5) já foram objeto de estudos, mas sem evidências consistentes de aplicação na prática clínica.(6)

A ativação da CF ocorre principalmente pela ação de enzimas do citocromo P450 (CYP) presentes no fígado, mas também no tumor, em menor escala, por meio da oxidação do carbono localizado na posição 4 da cadeia molecular para fornecer o metabólito ativo 4-hidroxíciclofosfamida.(2, 7, 8) A 4-hidroxíciclofosfamida é difundida para o interior da célula e pode ser oxidada ao metabólito inativo, a 4-cetociclofosfamida, ou sofrer clivagem do anel presente na molécula e produzir o metabólito aldofosfamida. No interior da célula, a aldofosfamida pode ser oxidada pela aldeído oxidase ao metabólito inativo, a carboxifosfamida, ou ser convertida nos metabólitos altamente tóxicos, a acroleína e a fosforamida mostarda, este que exerce o efeito alquilante na cadeia de DNA.(7, 9, 10). A acroleína acumulada na bexiga pode ocasionar cistite hemorrágica, efeito adverso da administração de CF que pode ser amenizado pela coadministração de mesna a fim de inativar a acroleína formada.(6)

Entre os agentes alquilantes, a CF é amplamente utilizada em doenças autoimunes e no tratamento de muitas formas de câncer, com bons resultados em pacientes com receptor de estrogênio positivo.(2, 7, 11, 12) Entre as principais aplicações da CF em doenças autoimunes estão o lúpus eritematoso sistêmico e a artrite reumatoide.(13-15) O Consenso de Lúpus Eritematoso Sistêmico estabelece a CF como escolha com graus de recomendação e forças de evidência A nas nefrites proliferativas, inclusive nefrite lúpica; B, na mielopatia e nefrite membranosa; C, na pneumonite aguda, hemorragia pulmonar, doença pulmonar intersticial e hipertensão pulmonar e D na pericardite refratária.(13) Já o algoritmo para o tratamento da artrite reumatoide do Consenso Brasileiro no Diagnóstico e Tratamento da Artrite Reumatoide e o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Artrite Reumatoide,(16) reservam a utilização de CF para quando da presença de manifestações extra-articulares graves na artrite reumatoide.(15) É utilizada ainda na neuromielitis óptica,(17) pefingóide de membranas mucosas,(18) dermatomiosite juvenil,(19, 20) esclerose sistêmica,(21, 22) vasculopatia lúpica,(23) púrpura trombocitopênica associada ao lúpus.(24)

A estabilidade da ciclofosfamida tem sido objeto de muitos estudos.(6, 7) A influência do processo de fabricação, seja do pó para o preparo seja da manipulação, da escolha do excipiente pelo fabricante, da temperatura de armazenamento, tanto do pó quanto do produto manipulado, do diluente escolhido para a manipulação, do pH do meio de preparo, da umidade de armazenamento do pó, da ação da luz no produto manipulado e do recipiente no qual é realizado o armazenamento do produto, afetam a estabilidade da ciclofosfamida e podem influenciar na terapêutica e, assim, devem ser objeto de atenção da equipe de saúde quando da avaliação da resposta do paciente ao tratamento.

## **Material e métodos**

O presente trabalho foi conduzido por meio de pesquisa nas bases de dados *Medline/Pubmed*, *Web of Science* e *SciELO*, acessadas por meio eletrônico nos meses de agosto a novembro de 2015 a partir da biblioteca central da universidade de Brasília. Os termos utilizados

para a pesquisa nas bases *Medline/Pubmed*, *Web of Science* foram (*stability*[Title]) AND *cyclophosphamide*[Title] e na base *SciElo* foram “estabilidade [Todos os índices] and ciclofosfamida [Todos os índices]” e *stability* [Todos os índices] and *cyclophosphamide* [Todos os índices]. O fluxo para a seleção dos artigos seguiu as diretrizes metodológicas do Ministério da Saúde.(25) A figura ao final desta seção demonstra o fluxo dessa seleção. A etapa de identificação resultou em 40 artigos: 37 artigos por meio das buscas eletrônicas e mais 3 artigos obtidos por busca manual em outras fontes. Desse total, foram excluídos 14 artigos duplicados, seguindo 26 artigos para a etapa de seleção. As etapas de seleção e elegibilidade eliminaram 14 artigos, o que resultou na inclusão de 12 artigos para a síntese qualitativa. Os artigos cujos textos completos não estavam disponíveis nas bases de dados acessadas a partir da biblioteca central da Universidade de Brasília foram buscados em outras instituições. A leitura dos textos completos dos 12 artigos incluídos possibilitou a busca das principais publicações a partir das referências ali encontradas, o que proporcionou aprofundar o tema objeto deste trabalho. Consultou-se a base de publicações da Sociedade Brasileira de Reumatologia, Revista Brasileira de Reumatologia, a fim de se identificar as aplicações da CF e os Consensos de tratamentos existentes. Em seguida, foram buscados na base de dados *Medline/Pubmed* os artigos científicos mais recentes que trataram da utilização da CF nas patologias reumatológicas identificadas e para as quais não foram localizados os respectivos Consensos. Para a elaboração do fluxo de seleção dos artigos foi utilizada a versão *freeware do software* BizAgi BPM®, versão 2.9.0.4, este de propriedade da companhia BizAgi®.

Figura. Fluxo de seleção dos artigos para a revisão.(25)

### **A influência do excipiente na liofilização da ciclofosfamida**

A liofilização é o método mais empregado para a obtenção de formas estáveis de substâncias que, em suas formas enchedas secas, seriam facilmente degradadas.(26) Mas, se por um lado a liofilização é utilizada para a obtenção de formas estáveis, essas formas liofilizadas guardam

problemas que afetam a própria estabilidade ou a labilidade, e nesse contexto o excipiente utilizado exerce importantes efeitos.(26, 27) Assim, considerando-se a instabilidade da CF a elevadas temperaturas(28) e a rápida decomposição em solução aquosa, o que torna, portanto, a CF candidata à liofilização, foram conduzidos estudos de avaliação de estabilidade da CF liofilizada em sete excipientes, utilizando-se as técnicas de varredura diferencial calorimétrica e a difração de raios X.(29, 30) Os excipientes avaliados foram manitol, lactose, bicarbonato de sódio, sorbitol, ureia, polivinilpirrolidona (PVP 40) e dextrano.

As características de congelamento e fusão da CF em solução aquosa e solução aquosa de CF e dos excipientes estudados revelaram que o tratamento termológico das soluções não é capaz de resultar na formação de CF cristalina; em todos esses produtos o pó apresentou-se na forma amorfa.(29, 30) Por outro lado, os ensaios sugeririam que a estabilidade da CF nos produtos liofilizados está relacionada com a forma física da CF nesses produtos.(29, 30) Assim é porque quando o produto formado não é incorporado de umidade a CF sofre rápida degradação, independentemente do excipiente utilizado.(29, 30)

O quadro 1 resume a dependência da estabilidade e forma física da CF em relação ao excipiente utilizado na liofilização. As preparações CF-sorbitol e CF-polivinilpirrolidona colapsaram e, portanto, os ensaios foram descontinuados para esses produtos.(29, 30) Apenas as preparações CF-manitol, CF-bicarbonato de sódio e CF-ureia mostraram-se significativamente mais estáveis que as demais preparações.(29, 30) Em todos esses produtos a CF está presente na forma cristalina mono-hidratada.(29, 30)

#### Quadro 1

Os Estados Unidos depositou patente, válida no Brasil regulamentada pelos Aspectos dos Direitos de Propriedade Intelectual Relacionados ao Comércio (Trips, do inglês *Agreement on Trade-Related Aspects of Intellectual Property Rights*).(31) A forma mono-hidratada é mais estável mas há

perda de água de hidratação sob condições secas com umidades relativas de cerca de 20% ou menos, o que pode causar problemas durante o preparo para a administração ao paciente, razão pela qual é recomendado que as temperaturas de armazenagem para os produtos de CF não excedam 30 °C; preferencialmente armazenadas a 25 °C.(32)

### **Degradação de ciclofosfamida considerada aceitável em diferentes recipientes, soluções, temperatura, luminosidade e pH**

A abordagem de preparações injetáveis de CF, e associações, desta seção está resumida no quadro 2 e será explorada ao longo desta seção. Ensaio experimental que avaliou a estabilidade da CF divulgaram que o aquecimento dos frascos contendo CF mono-hidratada, após a adição de um veículo aquoso, a fim de se obter a rápida dissolução, diminuiu a potência do produto final em função de a CF ser sensível ao calor.(32, 33) Ensaio que objetivaram avaliar a estabilidade química da CF de soluções parenterais após a diluição e reconstituição mostraram ainda que a formulação liofilizada de CF solubiliza mais rapidamente que o produto enchido seco.(33)

Experimento laboratorial que utilizou a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High-performance liquid chromatography*) conduziu ensaios a fim de determinar a taxa de dissolução de diferentes formulações de CF, enchida a seco ou liofilizada, e a estabilidade da droga após a reconstituição e diluição para quimioterapia intravenosa.(33) O método analítico por HPLC é a técnica padrão adotada na farmacopeia estadunidense - USP.(34) As condições experimentais consistiram armazenar as preparações em recipientes de vidro ou PVC, na ausência completa de luz ou na presença de luz ambiente fluorescente em ciclos de dia e noite, em diferentes temperaturas e em diferentes diluentes.(33) Água ou solução de cloreto de sódio 0,9% ou solução de dextrose 5% foram utilizados como diluentes.(33) As preparações foram testadas nas temperaturas de 4 °C , ambiente (20 °C a 22 °C) e 37 °C.(33) O agente espessante da forma liofilizada foi o manitol e a forma enchida a seco continha como excipiente o cloreto de sódio.(33) O percentual de perda foi menor que 10% da concentração inicial de CF por até 7 dias, em quaisquer um dos diluentes, em



quaisquer das formas, em recipiente de vidro ou de policloreto de polivinila (PVC), na presença ou ausência de luz, nas temperaturas de 4 °C e ambiente.(33) A degradação é muito rápida, com perda superior a 10% em até 24 horas após o preparo, quando a preparação é mantida a 37 °C, o que levou os autores a refletirem que as preparações testadas de CF não são indicadas para uso contínuo em ambiente ambulatorial se as soluções ficarem submetidas a essa temperatura.(33) Para a elaboração deste resumo foram tomadas como estáveis as preparações de CF com percentual de perda de até 10% da concentração inicial,(35, 36) mas à época da realização dos experimentos os autores tomaram como estável a degradação de até 5% da concentração inicial.(33) A degradação das preparações de CF foi superior a 5% quando armazenadas em recipiente de vidro após 7 dias, sob as mesmas condições normais de luz fluorescente ambiente, nas mesmas condições de preparo, o que pode indicar que a CF é susceptível a alguma degradação catalisada pela ação da luz e que, portanto, o recipiente de PVC oferece alguma proteção por ser menos translúcido que o vidro.(33)

O método de cromatografia líquida acoplada a espectrômetro de massas (LC-MS/MS, do inglês *Liquid chromatography-tandem mass spectrometry*) foi utilizado para determinar a estabilidade de solução aquosa de CF a diferentes temperaturas e exposição à luz. Os resultados mostraram que a 25 °C, em ciclo de dia e noite, a CF é estável por até 24 h; a 4 °C e ao abrigo da luz, estável por até 30 dias; a -20°C, estável por até 3 meses, o maior período de tempo estudado.(37)

Vários estudos mostraram a influência do pH do meio de preparo na estabilidade da CF, sendo que a faixa ótima é de pH 2 a pH 10; fora dessa faixa, a taxa de degradação aumenta com o aumento da concentração de H<sup>+</sup> e OH<sup>-</sup>, respectivamente.(28, 38, 39)

Experimento conduzido por HPLC que avaliou a estabilidade da CF em diferentes meios de infusão revelou que preparações de CF em água estéril para injeção ou água bacteriostática para injeção contendo parabenos são estáveis por até 24 horas em temperatura ambiente ou por até 6 dias quando refrigeradas na faixa de 2 °C a 8 °C, mas em função de a água estéril para injeção não conter conservante, é indicado que preparações contendo esse solvente sejam consumidas em até 6 horas após o preparo.(40) A estabilidade e compatibilidade também foi confirmada para soluções de

dextrose 5% ou Ringer lactato ou cloreto de sódio 0,45% ou dextrose 5% combinada com cloreto de sódio 0,9% ou combinação de dextrose 5% com Ringer lactato.(40)

A Sociedade Francesa de Farmacêuticos Hospitalares e a Sociedade Europeia de Farmacêuticos Oncologistas estabeleceram a estabilidade de preparações de CF, em cloreto de sódio 0,9%, em recipiente de vidro, protegidos da luz, na faixa de temperatura de 2 °C a 8 °C, em 14 dias; CF em cloreto de sódio 0,9% ou dextrose 5%, em recipiente de PVC, protegidos da luz, à temperatura ambiente, em 7 dias.(41)

Ensaio conduzido por meio da técnica de HPLC para determinar a compatibilidade física e a estabilidade química de preparações de CF com hidrocloreto de ondansetrona, utilizando como diluentes soluções de dextrose a 5% ou de cloreto de sódio a 0,9%, não evidenciaram a formação de precipitado ou o surgimento de turvação ou mudança de coloração, seja nas soluções em estudo seja nas soluções controle durante o período de 8 dias de estudo.(42) Mas, foi destacado que, diferentemente da CF, há estudos que mostram que a precipitação de ondansetrona ocorre em pH igual ou superior a 5,7.(42) Essas mesmas preparações foram testadas quando expostas a diferentes temperaturas. Os resultados mostraram que as preparações foram estáveis por 4 dias na faixa de 23 °C a 25 °C ou por oito dias a 4 °C.(35, 36, 42). Os ensaios não citaram a influência da luz na estabilidade das preparações. Por outro lado, o Guia de Estabilidade de Drogas para Programas de Quimioterapia sob Infusão Contínua estabeleceu a estabilidade de preparações simples de CF estocadas em recipientes de PVC, a 25 °C e solução salina, em até 6 dias e associações de CF-doxorrubicina e CF-fluorouracil em até 7 dias.(43)

## Quadro 2

### **A enantioseletividade farmacocinética dos confórmeros da ciclofosfamida**

Apesar de o critério de busca não haver encontrado algum estudo que tenha avaliado a estabilidade dos diferentes enantiômeros da CF, esta seção abordará artigos selecionados na

literatura examinada que se ocuparam de analisar a possibilidade de uso dos enantiômeros da CF frente ao racemato. A razão para essa abordagem é que há estudos que defendem que somente o enantiômero S-(-) é terapeuticamente mais ativo pelo fato de ser mais rapidamente metabolizado que o enantiômero R-(+).(3, 6, 7, 44-46)

As rotas conhecidas para a síntese de CF demonstram que a CF é obtida como um racemato.(2, 6, 7, 28, 47, 48) O interesse em elucidar a estereoespecificidade do processo de ativação metabólica dos conformeros de CF conduziu à avaliação preliminar da estabilidade conformacional *in vitro* no centro quiral fósforo por meio de estudos que utilizaram derivados diestereoisoméricos apropriados.(47) O autor do estudo observou que a estabilidade conformacional observada no modelo utilizado sugeriu que, na ausência de efeitos *in vivo*, a CF enantiomericamente pura não deve sofrer racemização durante o seu transporte relativamente rápido para o sistema de enzima hepática que efetua a C<sub>4</sub>-hidroxilação.(47) Apoiado nessas observações, concluiu-se que as vantagens terapêuticas de administrar CF enantiomericamente pura é uma possibilidade que deveria ser pesquisada.(47) A esse respeito, estudo posterior confirmou que a seletividade da CF para as células neoplásicas está em função da estabilidade da 4-hidroxíciclofosfamida.(11)

Estudo clínico observacional realizado com quatro pacientes reportou que a cada um dos pacientes foram administradas, sequencialmente, o racemato, o enantiômero (+) e o enantiômero (-). Os ensaios não revelaram diferença significativa na meia vida das três formas de CF nos plasmas dos pacientes. Entretanto, a eliminação de 4-cetociclofosfamida após a administração do enantiômero R-(+) foi significativamente maior do que a produzida a partir do racemato. Com base nessas observações, os autores concluíram não haver dados suficientes para assegurar que uma forma ou outra de CF exerça algum efeito terapêutico diferente em seres humanos, mas destacaram que há outros fatores que devem ser considerados, como a absorção enantiosseletiva dos intermediários metabólicos da 4-hidroxíciclofosfamida por células neoplásicas.(48)

Apesar da importância da enantiosseletividade na disposição cinética de fármacos, o que de algum modo direciona as indústrias farmacêuticas e as agências de regulação, há poucos estudos que

realizaram essa abordagem para a CF.(6, 7, 48-53) Embora haja citação de estudos que observaram maior ação antitumoral do enantiômero S-(-) em comparação ao enantiômero R-(+), bem como menores efeitos tóxicos, não há consenso sobre a relação entre a enantiosseletividade metabólica da CF e a eficácia terapêutica em humanos.(6) Entretanto, estudo clínico observacional realizado com 15 pacientes portadoras de câncer de mama encontrou que a disposição cinética da CPA é enantiosseletiva para o enantiômero (S)-(-)-ciclofosfamida.(6) Posteriormente, estudo clínico observacional realizado com um paciente portador de nefrite lúpica e uma paciente portadora de câncer de mama revelou que a disposição cinética dos enantiômeros da CF foi similar entre os dois pacientes,(7) o que pode indicar que a enantiosseletividade está presente tanto na nefrite lúpica quanto no câncer de mama e justificar a utilização do enantiômero (S)-(-)-ciclofosfamida nessas duas doenças.

Entretanto, apesar da demonstração da diferença de disposição cinética entre os enantiômeros da CF, em nenhuma das publicações utilizadas na elaboração deste trabalho foi encontrada a abordagem da estabilidade dessas moléculas sob os diversos fatores físico-químicos que afetam a estabilidade da forma racêmica de CF. Essa abordagem poderá ser um bom objeto para trabalhos futuros.

### **Considerações finais**

A revisão bibliográfica identificou que diversos fatores podem diminuir a biodisponibilidade da ciclofosfamida. Dentre os fatores que podem interferir na ionização da ciclofosfamida inclui fatores desde a preparação na indústria, excipientes para a obtenção do pó liofilizado, diluente, temperatura, ação da luz, pH do meio e do recipiente no qual é realizado a estocagem dos produtos obtidos nas preparações. Esses resultados são importantes e podem servir de subsídios à equipe de saúde para quando da avaliação da resposta terapêutica ao tratamento com preparações de ciclofosfamida e orientação aos serviços de manipulação sobre os cuidados que se deve ter com as preparações. A eficácia da ciclofosfamida por ser influenciada por diversos fatores incluindo os físico-

químicos e os farmacêuticos, devem ser tomadas todas as precauções para que todos esses parâmetros sejam seguidos pelo setor de quimioterapia para que não haja reações adversas advindas de erros que podem ser identificados desde a fabricação à manipulação da ciclofosfamida.

Os resultados encontrados demonstraram que a manipulação antecipada das preparações de ciclofosfamida tem implicações que podem interferir significativamente na resposta terapêutica do paciente em função do grande número de fatores envolvidos na estabilidade do fármaco. A situação é ainda mais importante quando as preparações quimioterápicas são centralizadas e ocorre a distribuição, o que é bastante comum. A depender do tempo decorrido entre a manipulação e a administração do quimioterápico, do diluente escolhido para a preparação, das condições de armazenamento e transporte, a eficácia terapêutica será prejudicada em grande medida.

O estudo possibilitou ainda compreender que a forma comercial da ciclofosfamida é uma mistura de 50% dos dois enantiômeros da ciclofosfamida e que são escassos os trabalhos conduzidos com esses confórmeros puros. Assim, são necessários mais estudos com essas formas enantioméricas a fim de se chegar a algum consenso acerca da farmacocinética enantioseletiva desse fármaco e a influência dessa tão importante questão na terapêutica, ou até mesmo na obtenção de produtos mais estáveis e eficazes.

Este trabalho possibilitou ainda identificar que são raros os estudos que avaliaram a farmacocinética dos enantiômeros puros da ciclofosfamida e a influência dessa tão importante questão na terapêutica, eficácia, toxicidade ou até mesmo na obtenção de produtos mais estáveis.

## **Conclusão**

A biodisponibilidade da ciclofosfamida pode ser diminuída por diversos fatores, incluindo desde a fabricação até a manipulação. A concentração sérica da ciclofosfamida pode ser aumentada em condições ambientais favoráveis que inclui abrigo da luz e temperatura de armazenamento a 4 °C. Outra conclusão importante é que essa preparação nas condições apropriadas tem estabilidade de até 7 dias.

## Agradecimentos

A professora Patrícia Medeiros de Souza pela condução dos trabalhos e ao João Pedro de Souza Pena Barbosa pela obtenção dos artigos não disponíveis nas bases de dados acessadas a partir da biblioteca central da Universidade de Brasília.

## Referências

1. Arnold H, Bourseaux F, Brock N. Chemotherapeutic Action of a Cyclic Nitrogen Mustard Phosphamide Ester (B 518-ASTA) in Experimental Tumours of the Rat. *Nature*. 1958;181(4613):931-.
2. Santos VMrd, Donnici CL, DaCosta JBN, Caixeiro JMR. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. *Química Nova*. 2007;30:159-70.
3. Flader C, Liu J, Borch RF. Development of Novel Quinone Phosphorodiamidate Prodrugs Targeted to DT-Diaphorase. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2000;43(16):3157-67.
4. McClure MT, Stupans I. Investigation of the mechanism by which cyclophosphamide alters cytochrome P450 in male rats. *Biochemical Pharmacology*. 1992;43(12):2655-8.
5. Jain M, Kwon C-H. 1,2-Benzisoxazole Phosphorodiamidates as Novel Anticancer Prodrugs Requiring Bioreductive Activation. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2003;46(25):5428-36.
6. Fernandes. BJD. Farmacocinética enantiosseletiva da ciclofosfamida em pacientes com câncer de mama. Ribeirão Preto, SP, Brasil.: Universidade de São Paulo.; 2008.
7. De Miranda Silva C, Dumêt Fernandes BJ, Marques Pereira MP, Da Silva LM, Donadi EA, Do Carmo Silva Matthes Â, et al. Determination of cyclophosphamide enantiomers in plasma by LC-MS/MS: Application to pharmacokinetics in breast cancer and lupus nephritis patients. *Chirality*. 2009;21(3):383-9.
8. Zhang J, Tian Q, Yung Chan S, Chuen Li S, Zhou S, Duan W, et al. Metabolism and transport of oxazaphosphorines and the clinical implications. *Drug metabolism reviews*. 2005;37(4):611.
9. Ekhardt C, Gebretensae A, Rosing H, Rodenhuis S, Beijnen JH, Huitema ADR. Simultaneous quantification of cyclophosphamide and its active metabolite 4-hydroxycyclophosphamide in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Journal of Chromatography B*. 2007;854(1):345-9.
10. De Jonge ME, Van Dam SM, Hillebrand MJX, Rosing H, Huitema ADR, Rodenhuis S, et al. Simultaneous quantification of cyclophosphamide, 4-hydroxycyclophosphamide, N, N', N''-triethylenethiophosphoramidate (thiotepa) and N, N', N''-triethylenephosphoramidate (tepa) in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*. 2004;39(3):262-71.
11. Germanas J, Pandya AG. Alkylating agents. *Dermatologic Therapy*. 2002;15(4):317-24.
12. Huang BT, Tan Y, Zhao WH, Zeng QC, Li BS, Chen RL. How to determine bortezomib-based regimen for elderly patients with multiple myeloma: PAD versus CBd, an observational study. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014;140(2):303-9.
13. Do MétoDo D, EVIDÊNCIAS DCD. Consenso de lúpus eritematoso sistêmico. *rev bras reumatol*. 2008;48(4):196-207.
14. Tunnicliffe DJ, Singh-Grewal D, Kim S, Craig JC, Tong A. Diagnosis, monitoring and treatment of systemic lupus erythematosus: A systematic review of clinical practice guidelines. *Arthritis care & research*. 2015.

15. da Mota LM, Cruz BA, Brenol CV, Pereira IA, Rezende-Fronza LS, Bertolo MB, et al. 2012 Brazilian Society of Rheumatology Consensus for the treatment of rheumatoid arthritis. *Rev Bras Reumatol.* 2012;52(2):152-74.
16. BRASIL. Portaria MS N. 710, de 27 de junho de 2013. Aprova o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Artrite Reumatoide. In: Saúde. Md, editor. Brasília.2013.
17. Yaguchi H, Sakushima K, Takahashi I, Nishimura H, Yashima-Yamada M, Nakamura M, et al. Efficacy of intravenous cyclophosphamide therapy for neuromyelitis optica spectrum disorder. *Internal medicine (Tokyo, Japan).* 2013;52(9):969.
18. Taylor J, McMillan R, Shephard M, Setterfield J, Ahmed R, Carrozzo M, et al. World Workshop on Oral Medicine VI: a systematic review of the treatment of mucous membrane pemphigoid. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology.* 2015.
19. Wakiguchi H, Hasegawa S, Hirano R, Kaneyasu H, Wakabayashi-Takahara M, Ohga S. Successful control of juvenile dermatomyositis-associated macrophage activation syndrome and interstitial pneumonia: distinct kinetics of interleukin-6 and-18 levels. *Pediatric Rheumatology.* 2015;13(1):1-5.
20. Rosa Neto NS, Goldenstein-Schainberg C. Juvenile dermatomyositis: review and update of the pathogenesis and treatment. *Rev Bras Reumatol.* 2010;50(3):299-312.
21. Cappelli S, Guiducci S, Randone SB, Cerinic MM. Immunosuppression for interstitial lung disease in systemic sclerosis. *European Respiratory Review.* 2013;22(129):236-43.
22. Cappelli S, Randone SB, Camiciottoli G, De Paulis A, Guiducci S, Matucci-Cerinic M. Interstitial lung disease in systemic sclerosis: where do we stand? *European Respiratory Review.* 2015;24(137):411-9.
23. Konstantinos T, Alexandros S, Ioannis G, Aikaterini P, Panagiota B. Increase of peripheral T regulatory cells during remission induction with cyclophosphamide in active systemic lupus erythematosus. *International journal of rheumatic diseases.* 2014;17(7):788-93.
24. Khayat S, Medkouri G, Etomba AM, Zamd M, Gharbi MB, Ramadan B. Thrombotic thrombocytopenic purpura and systemic lupus erythematosus: a rare and life-threatening association. *Arab journal of nephrology and transplantation.* 2012;5(2).
25. BRASIL. Diretrizes metodológicas: elaboração de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados. In: Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência TeIEdDce, Tecnologia., editors. Brasília, DF.2012.
26. Williams N, Polli G. The lyophilization of pharmaceuticals: a literature review. *PDA Journal of Pharmaceutical Science and Technology.* 1984;38(2):48-60.
27. Mendenhall DW. Stability of parenterals. *Drug Development and Industrial Pharmacy.* 1984;10(8-9):1297-342.
28. Zon G, Ludeman SM, Egan W. High-resolution nuclear magnetic resonance investigations of the chemical stability of cyclophosphamide and related phosphoramidic compounds. *J Am Chem Soc.* 1977;99(17):5785-95.
29. Kovalcik TR, Guillory JK. Stability of cyclophosphamide in lyophilized cakes. II. Urea, polyvinylpyrrolidone, and dextran as excipients. *J Parenter Sci Technol.* 1988;42(5):165-73.
30. Kovalcik TR, Guillory JK. The stability of cyclophosphamide in lyophilized cakes. Part I. Mannitol, lactose, and sodium bicarbonate as excipients. *J Parenter Sci Technol.* 1988;42(1):29-37.
31. Correa C. Trade related aspects of intellectual property rights: a commentary on the TRIPS agreement. *OUP Catalogue.* 2007.
32. Alexander RL, Bequette RJ, Kensler TT, Scott JA. Lyophilized cyclophosphamide. *Google Patents;* 1985.
33. Beijnen JH, van Gijn R, Challa EE, Kaijser GP, Underberg WJ. Chemical stability of two sterile, parenteral formulations of cyclophosphamide (Endoxan) after reconstitution and dilution in commonly used infusion fluids. *J Parenter Sci Technol.* 1992;46(4):111-6.
34. Bouligand J, Storme T, Laville I, Mercier L, Oberlin O, Vassal G, et al. Quality control and stability study using HPTLC: applications to cyclophosphamide in various pharmaceutical products. *J Pharm Biomed Anal.* 2005;38(1):180-5.

35. Brooke D, Scott J, Bequette R. Effect of briefly heating cyclophosphamide solutions. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 1975;32(1):44-5.
36. Benvenuto JA, Anderson R, Kerkof K, Smith R, Loo TL. Stability and compatibility of antitumor agents in glass and plastic containers. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 1981;38(12):1914-8.
37. Negreira N, Mastroianni N, de Alda ML, Barceló D. Multianalyte determination of 24 cytostatics and metabolites by liquid chromatography–electrospray–tandem mass spectrometry and study of their stability and optimum storage conditions in aqueous solution. *Talanta*. 2013;116:290-9.
38. Friedman OM, Bien S, Chakrabarti JK. Studies on the Hydrolysis of Cyclophosphamide. I. Identification of N-(2-Hydroxyethyl)-N'-(3-hydroxypropyl)ethylenediamine as the Main Product1. *Journal of the American Chemical Society*. 1965;87(21):4978-9.
39. Chakrabarti JK, Friedman OM. Studies on the hydrolysis of cyclophosphamide II. Isolation and characterization of intermediate hydrolytic products. *Journal of Heterocyclic Chemistry*. 1973;10(1):55-8.
40. Mittner A, Vincze Z, Jemnitz K. Stability of cyclophosphamide containing infusions. *Pharmazie*. 1999;54(3):224-5.
41. Vigneron J, Astier A, Trittler R, Hecq JD, Daouphars M, Larsson I, et al. SFPO and ESOP recommendations for the practical stability of anticancer drugs: an update. *Ann Pharm Fr*. 2013;71(6):376-89.
42. Fleming RA, Olsen DJ, Savage PD, Fox JL. Stability of ondansetron hydrochloride and cyclophosphamide in injectable solutions. *Am J Health Syst Pharm*. 1995;52(5):514-6.
43. Vyas HM, Baptista RJ, Mitrano F, Sesin G. Drug stability guidelines for a continuous infusion chemotherapy program. *Hospital pharmacy*. 1987;22(7):685-7.
44. Schmidt BF, Tang W-C, Eisenbrand G, Von Der Lieth C-W, Hull WE. Use of two-dimensional NMR and molecular modelling for the structure determination of novel cyclophosphamide derivatives: Diastereomers of 1-aza-2-bis(2-chloroethyl)- amino-3-oxa-2-oxo-2-phospha-7-thia-bicyclo- [4.4.0]decane and [4.3.0]nonane. *Magnetic Resonance in Chemistry*. 1992;30(12):1224-40.
45. Smith SM, Ludeman SM, Wilson LR, Springer JB, Gandhi MC, Dolan ME. Selective enhancement of ifosfamide-induced toxicity in Chinese hamster ovary cells. *Cancer chemotherapy and pharmacology*. 2003;52(4):291-302.
46. Niculescu-Duvaz I, Scanlon I, Niculescu-Duvaz D, Friedlos F, Martin J, Marais R, et al. Significant Differences in Biological Parameters between Prodrugs Cleavable by Carboxypeptidase G2 That Generate 3,5-Difluoro-phenol and -aniline Nitrogen Mustards in Gene-Directed Enzyme Prodrug Therapy Systems. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2004;47(10):2651-8.
47. Zon G. Cyclophosphamide stereochemistry. I. Synthesis and configurational stability of diastereomeric cyclophosphamide derivatives. *Tetrahedron Letters*. 1975;16(36):3139-42.
48. Jarman M, Milsted RA, Smyth JF, Kinas RW, Pankiewicz K, Stec WJ. Comparative metabolism of 2-[bis (2-chloroethyl) amino] tetrahydro-2H-1, 3, 2-oxazaphosphorine-2-oxide (cyclophosphamide) and its enantiomers in humans. *Cancer research*. 1979;39(7 Part 1):2762-7.
49. Williams ML, Wainer IW, Embree L, Barnett M, Granvil CL, Ducharme MP. Enantioselective induction of cyclophosphamide metabolism by phenytoin. *Chirality*. 1999;11(7):569-74.
50. Corlett SA, Chrystyn H. High-performance liquid chromatographic determination of the enantiomers of cyclophosphamide in serum. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*. 1996;682(2):337-42.
51. Holm KA, Kindberg CG, Stobaugh JF, Slavik M, Riley CM. Stereoselective pharmacokinetics and metabolism of the enantiomers of cyclophosphamide: Preliminary results in humans and rabbits. *Biochemical Pharmacology*. 1990;39(8):1375-84.
52. Reid JM, Stobaugh JF, Sternson LA. Liquid chromatographic determination of cyclophosphamide enantiomers in plasma by precolumn chiral derivatization. *Analytical chemistry*. 1989;61(5):441.



53. Williams ML, Wainer IW, Granvil CP, Gehrcke B, Bernstein ML, Ducharme MP. Pharmacokinetics of ( R)- and ( S)- cyclophosphamide and their dechloroethylated metabolites in cancer patients. *Chirality*. 1999;11(4):301-8.