

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

MATEUS ARAÚJO CASTRO E SOUZA

**ESTUDO COMPARATIVO DE DUAS FORMAS FARMACÊUTICAS
DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM. APLICAÇÃO DE MÉTODO
ANÁLITICO DESENVOLVIDO E VALIDADO VISANDO O
CONTROLE DE QUALIDADE**

Belo Horizonte

2014

MATEUS ARAÚJO CASTRO E SOUZA

**ESTUDO COMPARATIVO DE DUAS FORMAS FARMACÊUTICAS
DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM. APLICAÇÃO DE MÉTODO
ANALÍTICO DESENVOLVIDO E VALIDADO VISANDO O
CONTROLE DE QUALIDADE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

ALUNO: Mateus Araújo Castro e Souza

ORIENTADOR: Prof. Dr. Gerson Antônio Pianetti

CO-ORIENTADOR: Prof. Dr. Fernando Henrique Andrade Nogueira

Belo Horizonte

2014



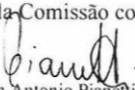
FOLHA DE APROVAÇÃO


"ESTUDO COMPARATIVO DE DUAS FORMAS FARMACÊUTICAS DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM. APLICAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO DESENVOLVIDO E VALIDADO VISANDO O CONTROLE DE QUALIDADE"

MATEUS ARAÚJO CASTRO E SOUZA


Dissertação submetida à Comissão Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, como requisito para obtenção do grau de Mestre em CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, área de concentração CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS.

Aprovada em 04 de agosto de 2014, pela Comissão constituída pelos membros:


Prof. Gerson Antonio Pianetti - Orientador
UFMG


Profa. Vladi Olga Consiglieri
USP


Prof. Guilherme Carneiro
UFVJM


Prof. Fernando Henrique Andrade Nogueira
UFRN

Belo Horizonte, 4 de agosto de 2014.

AGRADECIMENTOS

À Deus, a quem eu devo primeiramente tudo o que sou e conquistei.

Ao Professor Gerson Antônio Pianetti, meu orientador, primeiramente por ter me acolhido em sua equipe, pela orientação, confiança, pelas valiosas ideias e conselhos e por me dar condições para a realização deste trabalho.

Ao Professor Fernando Henrique Andrade Nogueira, meu co-orientador, por ter me ensinado desde a época da graduação grande parte do que eu sei de controle de qualidade, pelos valiosos conselhos e ensinamentos, pela amizade e por ter sido um exemplo de profissional.

À minha família, pelo amor, carinho, confiança, dedicação e por sempre acreditarem em mim.

Ao meu irmão, Lucas, pela convivência diária e amizade, pelos valiosos conselhos e pelas importantes sugestões durante a elaboração deste trabalho.

Aos meus amigos do Laboratório de Controle de Qualidade, principalmente Naialy, Paula Chellini e Carlos, pela agradável convivência, pela rica troca de informações, conselhos e pela amizade. À Naialy, pela valiosa ajuda na confecção dos espectros no infravermelho e pela harmonização das propostas de monografias para a Farmacopeia Brasileira.

Aos meus amigos do CEDAFAR-UFMG, Luciano e Leonardo, pelas várias ajudas, pelos almoços agradáveis e pela amizade.

Ao professor Guilherme Carneiro, pela valiosa ajuda na proposição dos placebos das formulações.

À Dra. Elisabeth e à Dra. Livia, pela doação da matéria-prima e das cápsulas e por terem acreditado no meu trabalho.

Ao INCQS, na pessoa da Dra. Maria do Carmo Vasquez Garcia, pelo fornecimento do cloridrato de diltiazem SQR.

À CAPES, pela concessão da bolsa de mestrado.

À CIFARMA, pela doação dos excipientes para a preparação dos placebos.

Ao Laboratório de Águas da Faculdade de Farmácia da UFMG, pelo fornecimento de água para a realização dos testes de dissolução e perfil de dissolução.

“A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre
aquilo que todo mundo vê.”

(Arthur Schopenhauer)

RESUMO

O diltiazem é um fármaco que atua como antagonista dos canais de cálcio, sendo utilizado no tratamento de arritmias cardíacas, da hipertensão e na prevenção de angina. São relatados vários métodos analíticos na literatura para a determinação de diltiazem em comprimidos e para a determinação de substâncias relacionadas em insumo farmacêutico, porém apenas um método analítico indicador de estabilidade foi encontrado, sendo esse demorado e incompatível para o acoplamento com detector de massas. As cápsulas magistrais de cloridrato de diltiazem são manipuladas nas mesmas dosagens que os comprimidos de liberação imediata disponíveis no mercado (30 e 60 mg) e são usadas como alternativa terapêutica aos medicamentos disponíveis comercialmente. Estudos comparando os perfis de dissolução de cápsulas e comprimidos não são descritos na literatura. Neste trabalho, foi desenvolvido e validado um método analítico indicador de estabilidade para a determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas magistrais por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE). Foram avaliados os parâmetros de seletividade em relação aos excipientes das formulações e aos produtos de degradação, assim como a linearidade, a precisão, a exatidão e a robustez do método analítico, conforme as legislações vigentes. O método analítico se mostrou adequado para a utilização em estudos de estabilidade de medicamentos. Além disso, amostras de comprimidos dos medicamentos referência e genérico e cápsulas magistrais de cloridrato de diltiazem foram avaliadas pelos testes de determinação de peso, desintegração, uniformidade de doses unitárias, doseamento, dissolução e perfil de dissolução. Os comprimidos também foram avaliados em relação à dureza e à friabilidade. Todos os medicamentos analisados foram considerados adequados em relação aos testes de determinação de peso, dureza e friabilidade (comprimidos), desintegração e uniformidade de doses unitárias. As cápsulas magistrais não foram consideradas adequadas em relação aos testes de dissolução e perfil de dissolução, demonstrando liberar rapidamente o princípio ativo a partir da forma farmacêutica, diferentemente dos comprimidos. Dessa forma, estudos posteriores são necessários para se conhecer os parâmetros farmacocinéticos apresentados por essa forma farmacêutica, estabelecer uma posologia adequada e verificar se a liberação muito rápida do cloridrato de diltiazem não leva a um aumento da ocorrência e gravidade dos efeitos adversos relacionados ao fármaco. Além disso, uma outra possibilidade seria modificar a formulação das cápsulas magistrais de forma a obter uma liberação do fármaco semelhante à do medicamento referência.

Palavras-chave: Cloridrato de diltiazem. Método analítico. Comprimidos. Cápsulas magistrais. CLAE. Controle de qualidade. Dissolução. Perfil de dissolução.

ABSTRACT

Diltiazem is a calcium channel antagonist used in the treatment of cardiac arrhythmias, hypertension and prevention of angina. Several analytical methods were found for the determination of diltiazem in tablets and for the determination of related substances in active pharmaceutical ingredient, but only one stability indicator analytical method has been found, being time-consuming and incompatible for liquid chromatography tandem mass spectrometry. The diltiazem hydrochloride compounded capsules are manipulated in the same dosages than immediate release tablets available in the market (30 and 60 mg) and are used interchangeably with the reference drug. Nevertheless, a comparison of the dissolution profiles of tablets and capsules is not described in the literature. In this work, a stability indicator analytical method for diltiazem hydrochloride determination in tablets and capsules by high performance liquid chromatography (HPLC) was developed and validated. The analytical method parameters of selectivity in relation to the formulation excipients and degradation products, linearity, precision, accuracy and robustness were evaluated according to the regulations. The analytical method was suitable for use in drug stability studies. In addition, samples of diltiazem hydrochloride generic and reference tablets and compounded capsules were evaluated by uniformity of weight, disintegration, uniformity of dosage units, assay, dissolution and dissolution profile tests. The tablets were also evaluated by hardness and friability tests. All analyzed samples were considered suitable in relation to the uniformity of weight, hardness and friability (tablets), disintegration and uniformity of dosage units tests. The compounded capsules were not considered appropriate in relation to the dissolution and dissolution profile tests, demonstrating rapid diltiazem release from the pharmaceutical form, unlike the tablets. Therefore, further studies are required to understand the pharmacokinetic parameters presented by this pharmaceutical form, to establish an appropriate posology and to verify if the very rapid diltiazem hydrochloride release does not lead to an increase in the incidence and severity of drug-related adverse effects. Moreover, another possibility would be to modify the compounded capsule formulation to obtain a similar release to the reference drug.

Key-words: Diltiazem hydrochloride. Analytical method. Tablets. Compounded capsules. HPLC. Quality control. Dissolution. Dissolution profile.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula estrutural do cloridrato de diltiazem.....	31
Figura 2 - Sobreposição dos espectros na região do infravermelho, da amostra (traço preto) e do cloridrato de diltiazem substância química de referência (traço vermelho).....	44
Figura 3 - Separação cromatográfica de duas substâncias (FARMACOPEIA, 2010).....	52
Figura 4 - Cálculo do fator de assimetria do pico (AGILENT TECHNOLOGIES, 2014).....	52
Figura 5 - Cromatograma do gradiente exploratório amplo para o cloridrato de diltiazem utilizando-se a fase aquosa A (ácido acético 0,1% v/v).....	63
Figura 6 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 4,072$ minutos; $k = 1,40$). Condições cromatográficas: metanol:ácido acético 0,1% v/v (53:47); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher Star C18; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm..	64
Figura 7 - Cromatograma do gradiente exploratório amplo para o cloridrato de diltiazem utilizando-se a fase aquosa B (ácido fórmico 0,1% v/v).....	65
Figura 8 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 3,828$ minutos; $k = 1,29$). Condições cromatográficas: metanol:ácido fórmico 0,1% v/v (61:39); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher C18; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm.....	66
Figura 9 - Cromatograma do gradiente exploratório amplo para o cloridrato de diltiazem utilizando-se a fase aquosa C (tampão acetato de amônio - ácido fórmico).....	67
Figura 10 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 4,177$ minutos; $k = 1,41$). Condições cromatográficas: metanol:tampão acetato de amônio - ácido fórmico (61:39); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher C18; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm.....	68
Figura 11 - Cromatograma do gradiente exploratório amplo para o	

cloridrato de diltiazem utilizando-se a fase aquosa D (ácido trifluoroacético 0,05% v/v).....	69
Figura 12 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 3,247$ minutos; $k = 0,94$). Condições cromatográficas: metanol:ácido trifluoroacético 0,05% v/v (69:31); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher Star C18; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm..	70
Figura 13 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 6,193$ minutos; $k = 2,70$). Condições cromatográficas: metanol:ácido trifluoroacético 0,05% v/v (61:39); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher C18; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm.....	71
Figura 14 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 5,595$ minutos; $k = 2,34$). Condições cromatográficas: metanol:ácido trifluoroacético 0,05% v/v (61:39); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher Star C18; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm; concentração da solução injetada: 30 µg/mL.....	73
Figura 15 - Cromatograma obtido após degradação em meio ácido, no qual se pode observar os picos do cloridrato de diltiazem ($k = 4,46$) e do produto de degradação 1 ($k = 2,47$).....	74
Figura 16 - Espectros de absorção para o produto de degradação em meio ácido e o cloridrato de diltiazem, respectivamente.....	74
Figura 17 - Cromatograma obtido após degradação em meio neutro, no qual se pode observar os picos do cloridrato de diltiazem ($k = 5,06$) e do produto de degradação 2 ($k = 2,93$).....	75
Figura 18 - Espectros de absorção para o produto de degradação em meio neutro e o cloridrato de diltiazem, respectivamente.....	76
Figura 19 - Cromatograma obtido após degradação em meio alcalino, no qual se pode observar os picos do cloridrato de diltiazem ($k = 4,70$) e do produto de degradação 3 ($k = 2,60$).....	77
Figura 20 - Espectros de absorção para o produto de degradação em meio alcalino e o cloridrato de diltiazem, respectivamente.....	77
Figura 21 - Cromatograma obtido após degradação em meio oxidativo, no qual se pode observar os picos do cloridrato de diltiazem ($k = 5,01$), produto de degradação 4 ($k = 0,61$), produto de degradação 5 ($k = 2,71$)	

e produto de degradação 6 ($k = 5,75$).....	78
Figura 22 - Espectros de absorção para os produtos de degradação em meio oxidativo e o cloridrato de diltiazem. PD4 - produto de degradação 4; PD5 - produto de degradação 5; DTZ - cloridrato de diltiazem; PD6 - produto de degradação 6.....	79
Figura 23 - Cromatograma obtido após a mistura das soluções submetidas a estresse nas diferentes condições, no qual se pode observar o pico do cloridrato de diltiazem ($k = 4,75$), e de três produtos de degradação, sendo eles 1 ($k = 0,63$), 2 ($k = 2,62$) e 3 ($k = 5,43$).....	80
Figura 24 - Sobreposição dos cromatogramas da solução amostra preparada a partir dos comprimidos do medicamento referência (linha cheia) e da solução amostra preparada a partir dos excipientes do medicamento referência (linha tracejada), demonstrando a ausência de pico interferente no tempo de retenção do cloridrato de diltiazem.....	81
Figura 25 - Sobreposição dos cromatogramas da solução amostra preparada a partir dos comprimidos do medicamento genérico (linha cheia) e da solução amostra preparada a partir dos excipientes do medicamento genérico (linha tracejada), demonstrando a ausência de pico interferente no tempo de retenção do cloridrato de diltiazem.....	82
Figura 26 - Sobreposição dos cromatogramas da solução amostra preparada a partir das cápsulas magistrais (linha cheia) e da solução amostra preparada a partir dos excipientes das cápsulas magistrais (linha tracejada), demonstrando a ausência de pico interferente no tempo de retenção do cloridrato de diltiazem.....	83
Figura 27 - Curva analítica para a determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas.....	86
Figura 28 - Gráfico de distribuição de resíduos.....	86
Figura 29 - Cromatograma obtido para a confirmação do limite de detecção do método analítico para determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsula.....	97

Figura 30 - Cromatograma obtido para a confirmação do limite de quantificação do método analítico para determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas.....	98
Figura 31 - Modelo de âncora utilizado para os testes de perfil de dissolução e dissolução das cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem.....	104
Figura 32 - Cromatograma (zoom) da amostra do medicamento referência após 210 minutos do início do teste de dissolução.....	113
Figura 33 - Cromatograma (zoom) da amostra do medicamento genérico após 210 minutos do início do teste de dissolução.....	114
Figura 34 - Cromatograma (zoom) da amostra das cápsulas magistrais após 210 minutos do início do teste de dissolução.....	115
Figura 35 - Perfis de dissolução dos medicamentos referência, genérico e cápsulas magistrais.....	119

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Métodos analíticos para determinação de cloridrato de diltiazem por Cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE).....	34
Tabela 2 - Termos descritivos de solubilidade e seus significados (FARMACOPEIA, 2010).....	41
Tabela 3 - Números de onda e atribuições das bandas de absorção obtidas nos espectros de infravermelho da amostra e da SQR.....	44
Tabela 4 - Perda por dessecação da amostra.....	45
Tabela 5 - Determinação do teor de cloridrato de diltiazem matéria-prima por titulação potenciométrica em meio não aquoso.....	46
Tabela 6 - Condições cromatográficas para os gradientes exploratórios amplos para eluição de cloridrato de diltiazem.....	49
Tabela 7 - Estimativa da porcentagem de solvente orgânico para a primeira corrida isocrática baseada no tempo de retenção do último pico na corrida em gradiente (SNYDER et al., 1997).....	50
Tabela 8 - Símbolos e fórmulas utilizadas nos cálculos dos parâmetros cromatográficos (FARMACOPEIA, 2010; SNYDER et al., 1997; AGILENT TECHNOLOGIES, 2014).....	51
Tabela 9 - Estudo de estabilidade intrínseca do cloridrato de diltiazem.....	53
Tabela 10 - Condições cromatográficas utilizadas como ponto de partida para a determinação de cloridrato de diltiazem nas amostras submetidas à degradação forçada durante o estudo de seletividade do método analítico.....	54
Tabela 11 - Condições cromatográficas para a determinação de cloridrato de diltiazem na presença de seus produtos de degradação otimizadas durante o estudo de seletividade do método analítico.....	54
Tabela 12 - Composição estimada e função farmacotécnica dos excipientes das formulações de cápsulas e comprimidos utilizados para o teste de seletividade.....	55
Tabela 13 - Modo de preparo das soluções de cloridrato de diltiazem para avaliação da linearidade.....	57

Tabela 14 - Testes estatísticos aplicados aos dados de regressão linear.....	57
Tabela 15 - Preparação das amostras de comprimidos para avaliação da exatidão do método analítico.....	58
Tabela 16 - Preparação das amostras de cápsulas para avaliação da recuperação do método.....	59
Tabela 17 - Parâmetros modificados para a avaliação da robustez do método de doseamento de cloridrato de diltiazem em formas farmacêuticas.....	60
Tabela 18 - Parâmetros de adequabilidade do sistema utilizados para a seleção da melhor fase móvel para o método analítico por CLAE.....	72
Tabela 19 - Teores (%) obtidos para as diferentes formulações no teste de seletividade do método analítico para determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas.....	83
Tabela 20 - Resultados obtidos na comparação de médias para o teste de seletividade do método analítico para determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas.....	84
Tabela 21 - Concentrações de cloridrato de diltiazem e valores de área para a construção da curva analítica do método de doseamento em comprimidos e cápsulas por CLAE.....	85
Tabela 22 - Conclusões dos testes estatísticos aplicados aos dados de regressão linear para verificar se os mesmos atendem às premissas para o métodos dos mínimos quadrados ordinário.....	85
Tabela 23 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de comprimidos no nível de concentração de 50% para a avaliação da exatidão do método analítico.....	87
Tabela 24 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de comprimidos no nível de concentração de 100% para a avaliação da exatidão do método analítico.....	88
Tabela 25 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de comprimidos no nível de concentração de 150% para a avaliação da exatidão do método analítico.....	89

Tabela 26 - Testes estatísticos para avaliação das premissas para análise de variância aplicada aos dados de recuperação de comprimidos.....	89
Tabela 27 - Desvios padrão relativos estimados por ANOVA para a matriz de comprimidos.....	89
Tabela 28 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de cápsulas no nível de concentração de 50% para a avaliação da exatidão do método analítico.....	90
Tabela 29 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de cápsulas no nível de concentração de 100% para a avaliação da recuperação do método.....	91
Tabela 30 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de cápsulas no nível de concentração de 150% para a avaliação da recuperação do método.....	91
Tabela 31 - Testes estatísticos aplicados aos dados de recuperação de cápsulas.....	92
Tabela 32 - Desvios padrões relativos estimados por ANOVA para a matriz de cápsulas.....	92
Tabela 33 - Teores de cloridrato de diltiazem obtidos com as variações dos parâmetros no teste de robustez para comprimidos.....	93
Tabela 34 - Análise de variância (ANOVA) para a avaliação da robustez do método analítico para comprimidos.....	93
Tabela 35 - Teores de cloridrato de diltiazem obtidos com as variações dos parâmetros no teste de robustez para cápsulas.....	94
Tabela 36 - Análise de variância (ANOVA) para a avaliação da robustez do método analítico para cápsulas.....	94
Tabela 37 - Valores médios de área, fator de retenção, fator de assimetria e número de pratos teóricos relativos ao pico de cloridrato de diltiazem obtidos a partir da solução padrão durante a avaliação da robustez do método analítico. Em parênteses é apresentado o DPR dos valores de cinco injeções.....	95
Tabela 38 - Parâmetros de adequabilidade recomendados pelo FDA e sugeridos para o método desenvolvido.....	96

Tabela 39 - Construção da curva analítica para a determinação da porcentagem de cedência de cloridrato de diltiazem a partir das formas farmacêuticas comprimido e cápsula nos testes de perfil de dissolução e dissolução.....	104
Tabela 40 - Critérios para aprovação de comprimidos de cloridrato de diltiazem no teste de dissolução (THE UNITED, 2012).....	104
Tabela 41 - Construção da curva analítica para determinação do teor de cloridrato de diltiazem nas formas farmacêuticas comprimido e cápsula.....	107
Tabela 42 - Uniformidade de conteúdo para comprimidos do medicamento referência (cardizem) contendo cloridrato de diltiazem.....	111
Tabela 43 - Uniformidade de conteúdo para comprimidos do medicamento genérico contendo cloridrato de diltiazem.....	111
Tabela 44 - Uniformidade de conteúdo para cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem.....	112
Tabela 45 - Porcentagens de cedência de cloridrato de diltiazem obtidas para o medicamento referência no teste de dissolução.....	116
Tabela 46 - Porcentagens de cedência de cloridrato de diltiazem obtidas para o medicamento genérico no teste de dissolução.....	116
Tabela 47 - Porcentagens de cedência de cloridrato de diltiazem obtidas para as cápsulas magistrais no teste de dissolução.....	117
Tabela 48 - Porcentagens de cedência para a construção do perfil de dissolução do medicamento referência.....	117
Tabela 49 - Porcentagens de cedência para a construção do perfil de dissolução do medicamento genérico.....	118
Tabela 50 - Porcentagens de cedência para a construção do perfil de dissolução das cápsulas magistrais.....	118
Tabela 51 - Valores de F1 e F2 obtidos para a comparação dos perfis de dissolução do medicamento genérico e cápsulas magistrais com o perfil de dissolução do medicamento referência.....	120
Tabela 52 - Determinação do teor de cloridrato de diltiazem no medicamento referência (cardizem).....	124

Tabela 53 - Determinação do teor de cloridrato de diltiazem no medicamento genérico.....	124
Tabela 54 - Determinação do teor de cloridrato de diltiazem nas cápsulas magistrais.....	125

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de variância
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
C ₁₈	Octadecilsilano
CLAE	Cromatografia a líquido de alta eficiência
DAD	Detector de arranjo de diodos
DPR	Desvio padrão relativo
DTZ	Diltiazem
ECA	Enzima conversora de angiotensina
FDA	<i>Food and Drug Administration</i> - EUA
HAS	Hipertensão Arterial Sistêmica
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i> ; Conferência Internacional de Harmonização
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
m/z	Relação massa/carga
nm	Nanômetros
OMS	Organização Mundial de Saúde
PD	Produto de degradação
q.s.p	Quantidade suficiente para
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
SQR	Substância química de referência
SUS	Sistema Único de Saúde
SV	Solução volumétrica
TFA	<i>Trifluoroacetic acid</i> ; ácido trifluoroacético
t _{máx}	Tempo de absorção máxima
t _R	Tempo de retenção
UHPLC	<i>Ultra high performance liquid chromatography</i> ; Cromatografia a líquido de ultra eficiência
USP	<i>United States Pharmacopeia</i> ; Farmacopeia Americana
UV	Ultravioleta
VA	Valor de aceitação
WHO	<i>World Health Organization</i> ; Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

1 INTRODUÇÃO.....	22
2 OBJETIVOS.....	24
2.1 Geral.....	24
2.2 Específicos.....	24
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
3.1 Indicações terapêuticas do cloridrato de diltiazem.....	25
3.1.1 <i>Hipertensão arterial sistêmica</i>	25
3.1.2 <i>Angina pectoris</i>	29
3.2 Propriedades farmacocinéticas e físico-químicas do cloridrato de diltiazem.....	31
3.3 Apresentações comerciais do cloridrato de diltiazem disponíveis no mercado.....	32
3.4 Métodos analíticos para determinação de cloridrato de diltiazem por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE).....	32
3.5 Produtos manipulados.....	37
3.6 Estudos comparativos da qualidade de produtos manipulados e industrializados.....	38
4 CAPÍTULO I: CONTROLE DE QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM.....	39
4.1 Materiais e métodos.....	39
4.1.1 <i>Materiais</i>	39
4.1.2 <i>Métodos</i>	40

4.2 Resultados e discussão.....	43
4.2.1 <i>Determinação da solubilidade</i>	43
4.2.2 <i>Determinação do ponto de fusão</i>	43
4.2.3 <i>Identificação</i>	43
4.2.4 <i>pH</i>	45
4.2.5 <i>Perda por dessecação</i>	45
4.2.6 <i>Doseamento</i>	46

5 CAPÍTULO II: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA A LÍQUIDO DE ALTA EFICIÊNCIA PARA A DETERMINAÇÃO DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM EM COMPRIMIDOS E CÁPSULAS..... 47

5.1 Materiais e métodos.....	47
5.1.1 <i>Materiais</i>	47
5.1.2 <i>Métodos</i>	48
5.2 Resultados e discussão.....	62
5.2.1 <i>Seleção e otimização das condições cromatográficas</i>	62
5.2.2 <i>Seletividade</i>	73
5.2.3 <i>Linearidade</i>	84
5.2.4 <i>Exatidão, precisão intraensaio e interensaios</i>	87
5.2.5 <i>Robustez</i>	93
5.2.6 <i>Adequabilidade do sistema</i>	95
5.2.7 <i>Limite de detecção</i>	96
5.2.8 <i>Limite de quantificação</i>	97

6 CAPÍTULO III: ESTUDO COMPARATIVO DOS MEDICAMENTOS CARDIZEM (MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA), CLORIDRATO DE DILTIAZEM (MEDICAMENTO GENÉRICO) E CÁPSULAS MAGISTRAIS CONTENDO CLORIDRATO DE DILTIAZEM..... 99

6.1 Materiais e métodos.....	99
6.1.1 <i>Materiais</i>	99
6.1.2 <i>Métodos</i>	100
6.2 Resultados e discussão.....	109

6.2.1 Determinação de peso.....	109
6.2.2 Dureza.....	109
6.2.3 Friabilidade.....	110
6.2.4 Desintegração.....	110
6.2.5 Uniformidade de doses unitárias.....	110
6.2.6 Análise das amostras do teste de dissolução por Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência (CLAE).....	113
6.2.7 Dissolução.....	115
6.2.8 Perfil de dissolução.....	117
6.2.9 Doseamento.....	124
7 CONCLUSÕES.....	126
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	128
APÊNDICE A - PROPOSTA DE MONOGRAFIA DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO PARA INCLUSÃO NA FARMACOPEIA BRASILEIRA 6ª EDIÇÃO.....	135
APÊNDICE B - PROPOSTA DE MONOGRAFIA DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM COMPRIMIDOS PARA INCLUSÃO NA FARMACOPEIA BRASILEIRA 6ª EDIÇÃO.....	137
APÊNDICE C - RESUMO SUBMETIDO E APROVADO PARA APRESENTAÇÃO NA SESSÃO DE PÔSTERES DO SIMCRO - SIMPÓSIO BRASILEIRO DE CROMATOGRAFIA E TÉCNICAS AFINS, A SER REALIZADO NA CIDADE DE CAMPOS DO JORDÃO - SP, EM SETEMBRO/2014.....	139
APÊNDICE D - RESUMO SUBMETIDO PARA APRESENTAÇÃO NA SESSÃO DE PÔSTERES DO SIMCIFAR - SIMPÓSIO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS, A SER REALIZADO NA CIDADE DE BELO HORIZONTE - MG, EM AGOSTO/2014.....	140

1 INTRODUÇÃO

A política nacional de medicamentos genéricos foi implantada no Brasil por meio da publicação da Lei nº. 9787 de 10 de Fevereiro de 1999, que trouxe um novo paradigma na relação prescrição e dispensação de medicamentos visando à obtenção de tratamento seguro e eficaz. A legislação estabeleceu a necessidade de realização de testes de equivalência farmacêutica e bioequivalência para a comprovação da equivalência terapêutica dos medicamentos genéricos em relação aos medicamentos referência e para garantir a intercambialidade entre os mesmos. A referida lei estabeleceu que somente os medicamentos genéricos fossem intercambiáveis com seus respectivos medicamentos de referência (BRASIL, 1999).

A legislação brasileira permitia, até o ano de 2003, o registro de medicamentos similares sem a exigência de comprovação de equivalência terapêutica entre as formulações, ou seja, testes de equivalência farmacêutica e bioequivalência não eram requeridos para o registro de medicamentos similares. Dessa forma, existiam diversas alternativas farmacêuticas no mercado brasileiro, porém sem a comprovação de eficácia e segurança (ARAÚJO *et al.*, 2010).

Pela equivalência farmacêutica comprova-se que dois medicamentos contêm o mesmo fármaco, ou seja, mesmo sal ou éster da molécula terapeuticamente ativa, mesma forma farmacêutica e via de administração e são idênticos em relação à concentração ou potência. Para garantir que dois medicamentos são equivalentes farmacêuticos, eles devem cumprir com as especificações presentes na monografia oficial da Farmacopeia Brasileira ou, na ausência desta, em monografias de outros compêndios reconhecidos pela Anvisa, como a farmacopeia americana, a britânica, a europeia, a japonesa, entre outras (STORPIRTIS, 2011; BRASIL, 2009).

A RDC nº 31/2010 dispõe sobre a realização de estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo. De acordo com a legislação, o estudo deve ser realizado por centro de equivalência farmacêutica

habilitado pela Anvisa comparando-se simultaneamente o medicamento teste e o medicamento de referência (BRASIL, 2010).

A RDC nº 67/2007, que dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias, preconiza a realização de estudos de perfil de dissolução quando da manipulação de medicamentos sólidos a base de fármacos de baixo índice terapêutico (BRASIL, 2007). Contudo, a legislação não exige a realização de tais estudos para os demais fármacos.

O cloridrato de diltiazem é um fármaco amplamente utilizado na clínica e muito manipulado em farmácias magistrais. As cápsulas magistrais de cloridrato de diltiazem são manipuladas nas mesmas dosagens que os comprimidos de liberação imediata disponíveis no mercado (30 e 60 mg) e são usadas como alternativa terapêutica ao medicamento referência. Apesar disso, estudos comparando os perfis de dissolução de cápsulas e comprimidos não são descritos na literatura. O perfil de dissolução *in vitro* pode ser um indicativo do comportamento *in vivo* de uma formulação. Assim, perfis de dissolução semelhantes podem ser um indicativo de que as formulações são bioequivalentes, o que garantiria a eficácia e a segurança dos medicamentos. Dessa forma, com este estudo tem-se por finalidade realizar um estudo comparativo entre cápsulas magistrais e comprimidos dos medicamentos referência e genérico contendo cloridrato de diltiazem.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Realizar estudo comparativo do cloridrato de diltiazem em comprimidos (referência e genérico) e cápsulas magistrais.

2.2 Específicos

- Desenvolver e validar método analítico indicador de estabilidade para a determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas magistrais.
- Avaliar a qualidade de comprimidos e cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem utilizando o método proposto.
- Realizar perfis de dissolução de comprimidos e de cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem. Avaliar comparativamente os resultados obtidos.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Indicações terapêuticas do cloridrato de diltiazem

O cloridrato de diltiazem é utilizado no tratamento da hipertensão arterial sistêmica (HAS) e no tratamento da *angina pectoris*. Nas seções a seguir são revisadas as suas utilizações no tratamento dessas condições.

3.1.1 Hipertensão arterial sistêmica

A HAS é a elevação da pressão arterial sistólica para valores maiores ou iguais a 140 mmHg e da pressão arterial diastólica para valores maiores ou iguais a 90 mmHg em pacientes que não fazem uso de medicamentos anti-hipertensivos. É uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial. (ROMERO *et al.*, 2000; NOBRE *et al.*, 2013).

A hipertensão arterial é um importante fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, sendo considerada uma importante causa de morte no mundo. Estima-se que mais de 30% da população mundial tem HAS, sendo a prevalência em torno de 40% na população acima de 25 anos. O número de pessoas com hipertensão não controlada aumentou de 600 milhões em 1980 para aproximadamente 1 bilhão de pessoas em 2008. A hipertensão arterial não diagnosticada e não controlada aumenta o risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, sendo a principal causa de acidente vascular encefálico no mundo. Em 2001, 7,6 milhões de mortes no mundo foram atribuídas à elevação da pressão arterial, sendo 54% dos casos de acidente vascular encefálico e 47% dos casos de doença isquêmica do coração atribuídos à elevação da pressão arterial. No Brasil, 27,4% das mortes foram decorrentes de doenças cardiovasculares, sendo que a principal causa de morte é o acidente vascular encefálico (SBC; SBH; SBN, 2010; WHO, 2011; WILLIAMS, 2010).

A hipertensão arterial apresenta elevados custos médicos e socioeconômicos devido a suas complicações, tais como acidente vascular encefálico, doença arterial coronariana, insuficiência cardíaca, insuficiência renal crônica e doença vascular de extremidades (SBC, SBH, SBN, 2007). No mês de novembro de 2009, houve 91970 internações por doenças cardiovasculares no Sistema Único de Saúde (SUS), representando um custo de mais de 165 milhões de reais (SBC, SBH, SBN, 2010).

São considerados fatores de risco para o desenvolvimento de hipertensão arterial a idade, o sexo e etnia, a genética, fatores socioeconômicos, consumo de sal, obesidade, consumo de álcool e o sedentarismo (SBC; SBH; SBN, 2010).

A detecção e tratamento precoce da HAS são de extrema importância para reduzir o risco de doenças cardiovasculares e, conseqüentemente, prevenir a ocorrência de acidentes vasculares encefálicos e infartos (WHO, 2011). Nos estágios iniciais, a HAS pode ser tratada através da modificação do estilo de vida do paciente. A prática de exercícios físicos aeróbicos, a perda de peso, a baixa ingestão de sal e álcool, uma alimentação adequada e o combate ao tabagismo são práticas que podem contribuir para o controle da HAS. (SHEPS *et al.*, 1997; CHOBANIAN *et al.*, 2003). Recomenda-se que o período para as medidas de modificação do estilo de vida em indivíduos com a pressão arterial limítrofe e em pacientes hipertensos deve ser de no máximo 12 meses para aqueles pacientes que não possuem nenhum fator de risco e de no máximo 6 meses para os pacientes que possuem pelo menos um fator de risco. Caso esses indivíduos não apresentem redução da pressão arterial nesse tempo, deve-se iniciar o tratamento farmacológico em associação (CARRETERO; OPARIL, 2000).

Com o tratamento farmacológico da HAS visa-se, principalmente, à redução da morbidade e da mortalidade cardiovasculares. Os medicamentos anti-hipertensivos disponíveis no mercado para uso clínico estão divididos em classes, sendo eles os diuréticos, os inibidores adrenérgicos, os vasodilatadores diretos, os bloqueadores dos canais de cálcio, os inibidores da

enzima conversora de angiotensina (ECA), os bloqueadores do receptor AT1 da angiotensina II e o inibidor direto da renina (CHEN; YANG, 2013).

Os bloqueadores ou antagonistas dos canais de cálcio possuem ação anti-hipertensiva em decorrência da redução da resistência vascular periférica, obtida pela diminuição da concentração de cálcio nas células musculares lisas vasculares. Esses fármacos são divididos em três subgrupos, sendo eles as fenilalquilaminas, as benzotiazepinas e as diidropiridinas (SBC; SBH; SBN, 2010).

O cloridrato de diltiazem, fármaco pertencente à classe das benzodiazepinas, é utilizado no tratamento da hipertensão e na prevenção da angina (RANG *et al.*, 2007). Os canais de Ca^{2+} sensíveis à voltagem, que medeiam a entrada de Ca^{2+} extracelular em resposta à despolarização elétrica, são inibidos pelos antagonistas dos canais de Ca^{2+} , causando relaxamento no músculo liso vascular. Além disso, esses fármacos também podem produzir efeitos inotrópicos e cronotrópicos negativos no coração. Eles se ligam a subunidade α_1 dos canais de cálcio do tipo L, reduzindo o influxo de Ca^{2+} para o meio intracelular. O diltiazem é um dos 10 antagonistas dos canais de Ca^{2+} aprovados para uso clínico nos Estados Unidos. O diltiazem causa relaxamento da musculatura lisa arterial, não exercendo o mesmo efeito no leito venoso. Ainda, o diltiazem diminui a resistência vascular coronariana e aumenta o fluxo de sangue para as artérias coronárias (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2011).

Alguns estudos demonstram empiricamente a eficácia do cloridrato de diltiazem para o tratamento da HAS. POOL e colaboradores (1986), a partir de um ensaio clínico multicêntrico, aleatorizado e controlado, conduzido com 77 pacientes (40 deles receberam diltiazem e 37 receberam placebo), avaliaram a eficácia do diltiazem como monoterapia para o tratamento da HAS. Os pacientes foram acompanhados por 12 semanas. Uma dose de 360 mg/dia de diltiazem foi necessária para 85% dos pacientes. O diltiazem foi considerado eficaz para o tratamento de HAS ligeira a moderada. Outro ensaio clínico multicêntrico, aleatorizado, duplo-cego e controlado foi realizado para avaliar a

eficácia, a relação dose-resposta e a duração da ação de comprimidos de liberação imediata de cloridrato de diltiazem como monoterapia no tratamento da HAS. Foram avaliadas diferentes doses em diferentes regimes posológicos. O pico de efeito terapêutico foi obtido após 6 horas da administração das doses, com redução significativa após 10 horas. O pico de concentração plasmática ocorreu em três horas. Os comprimidos de liberação imediata não demonstraram ser eficientes para o tratamento da HAS em regime posológico de 12 em 12 horas. Controle adequado das pressão arterial sistólica e diastólica para a maioria dos pacientes foi obtido com regime posológico de 8 em 8 horas (POOL; NAPPI; WEBER, 1990).

Para o tratamento da hipertensão arterial sistêmica, comprimidos de liberação imediata de cloridrato de diltiazem devem ser administrado em uma posologia inicial de 30 mg três vezes ao dia até uma dose máxima de 360 mg ao dia, dividida em três a quatro tomadas (AHFS DRUG INFORMATION, 2004).

Porém, alguns estudos demonstraram possíveis riscos para a ocorrência de eventos cardiovasculares, como acidente vascular encefálico, infarto do miocárdio, entre outros, relacionados ao uso de agentes bloqueadores dos canais de cálcio, principalmente às formas farmacêuticas de liberação imediata, no tratamento de hipertensão em pacientes com doenças coronarianas. Por isso, a hipertensão arterial deve ser tratada preferencialmente com bloqueadores de canais de cálcio de longa duração ou de formulações que permitam uma liberação prolongada (AHFS DRUG INFORMATION, 2004; SHEPS, *et al.*, 1997; SBC, SBH, SBN, 2010). Os antagonistas dos canais de cálcio de liberação prolongada ou aqueles com meias-vidas longas proporcionam um controle mais uniforme da pressão arterial, sendo mais apropriados ao tratamento da hipertensão crônica (KATZUNG, 2010).

Para solucionar a controvérsia criada a respeito da segurança dos antagonistas dos canais de cálcio, a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a Sociedade Internacional de Hipertensão criaram um comitê para revisar as evidências a respeito dos efeitos dessas substâncias no risco de doenças cardiovasculares. Foram observadas tendências para a existência de efeitos benéficos com a

utilização de cloridrato de diltiazem e verapamil e tendências para a existência de efeitos nocivos com a utilização de nifedipino. Entretanto, as evidências disponíveis não possibilitaram concluir sobre a existência de efeitos benéficos ou nocivos relacionados aos antagonistas dos canais de cálcio. De acordo com os autores, essa controvérsia seria solucionada apenas quando os longos estudos epidemiológicos de acompanhamento em andamento estivessem concluídos (*AD HOC SUBCOMMITTEE...*, 1997).

Em um estudo prospectivo de acompanhamento realizado em centros de saúde da Noruega e da Suécia, o Nordic Diltiazem (NORDIL), foram acompanhados 10881 pacientes, de outubro de 1992 a outubro de 1999. Foram recrutados pacientes, com idades entre 50 e 74 anos, que faziam uso de diltiazem, diuréticos, betabloqueadores ou a associação dos dois últimos para o tratamento de hipertensão. Foi investigada a ocorrência de acidentes vasculares encefálicos fatais ou não fatais, infarto do miocárdio e mortes decorrentes de doenças cardiovasculares nesses grupos. Os autores observaram que o tratamento com diltiazem foi tão efetivo quanto o tratamento com diuréticos, betabloqueadores ou a associação dos dois na prevenção de acidentes vasculares encefálicos, infarto do miocárdio ou mortes provenientes de outras doenças cardiovasculares. É importante ressaltar que foi utilizada uma formulação de liberação imediata de diltiazem até o ano de 1997, quando se passou a utilizar uma formulação de liberação prolongada. No entanto, os autores não apresentaram justificativas para tal substituição (HANSSON *et al.*, 2000).

3.1.2 Angina pectoris

A *angina pectoris* é uma síndrome clínica caracterizada por desconforto no peito, que pode irradiar para o pescoço, queixo, ombro, braço ou para as costas, sendo normalmente agravada por esforço físico ou estresse emocional e aliviada por nitroglicerina (GIBBONS *et al.*, 1999). A angina é o principal sintoma de isquemia miocárdica e é normalmente causada por obstrução aterosclerótica das artérias coronárias, sendo comum a obstrução de pelo menos uma grande artéria coronária epicárdica, o que restringe o fluxo de

sangue e, conseqüentemente, a oxigenação para o miocárdio (GIBBONS *et al.*, 1999; NHS, 2011).

Estudos realizados com diversas populações demonstraram que a prevalência da angina aumenta acentuadamente com a idade em ambos os sexos. Em mulheres entre 45 e 54 anos, a prevalência varia de 0,1 a 1% e entre 10 e 15% em mulheres entre 65 e 74 anos. Em homens entre 45 e 54 anos, a prevalência varia de 2 a 5% e entre 10 e 20% em homens entre 65 e 74 anos. Estima-se que, na maioria dos países europeus, entre 20000 e 40000 indivíduos por milhão de habitantes sofrem de angina (FOX *et al.*, 2006).

Os antagonistas dos canais de cálcio, como o diltiazem, diminuem a resistência vascular coronariana e aumentam o fluxo de sangue para as artérias coronárias. Os antagonistas dos canais de cálcio são eficazes para o tratamento de angina vasoespástica e exercem seus efeitos através da dilatação das artérias coronárias epicárdicas e diminuição da demanda miocárdica de oxigênio pela redução da resistência vascular sistêmica, redução da contratilidade do miocárdio e diminuição da pressão arterial (FIHN *et al.*, 2012).

Para o tratamento da *angina pectoris*, comprimidos de liberação imediata de cloridrato de diltiazem devem ser administrados em uma posologia inicial de 30 mg quatro vezes ao dia. A dose adequada para o tratamento da angina varia de 180 a 360 mg ao dia, dividida em três a quatro tomadas. Após o controle dos sintomas da angina, a dose deve ser gradualmente reduzida até a menor dose capaz de causar o alívio dos sintomas (AHFS DRUG INFORMATION, 2004). Com o desenvolvimento das formas farmacêuticas de liberação prolongada, essas também passaram a ser utilizadas no tratamento da angina (POOL *et al.*, 1994).

Antagonistas dos canais de cálcio de curta duração da classe das diidropiridinas, como o nifedipino, possuem o potencial de aumentar o risco de eventos cardiovasculares e devem ser evitados. Os antagonistas de longa duração, incluindo as formulações que permitem liberação prolongada e os

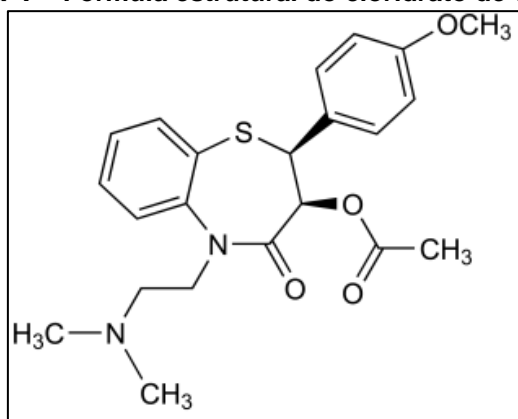
antagonistas diidropiridínicos e não diidropiridínicos de longa duração, são efetivos no alívio dos sintomas da angina (GIBBONS *et al.*, 1999).

3.2 Propriedades farmacocinéticas e físico-químicas do cloridrato de diltiazem

O cloridrato de diltiazem, quimicamente cloridrato de (2S,3S)-3-acetiloxi-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-di-hidro-2-(4-metoxifenil)-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona, é um pó cristalino branco, inodoro e de gosto amargo, fórmula molecular $C_{22}H_{27}ClN_2O_4S$, e massa molecular de 450,98 g/mol. É facilmente solúvel em água, metanol, etanol, clorofórmio, diclorometano, ácido fórmico, pouco solúvel em etanol anidro, praticamente insolúvel em benzeno, e insolúvel em éter. O logaritmo do coeficiente de partição octanol/água (Log P) é de 2,79 e o pKa é de 7,7. O fármaco possui faixa de fusão de 207,5 a 212,0°C, sendo também relatado ponto de fusão de aproximadamente 213 °C, com decomposição (O'NEIL,2006; THE EUROPEAN, 2010; THE UNITED, 2012; FARMACOPEIA Portuguesa, 2002; WODLINGER, 2005).

A fórmula estrutural do cloridrato de diltiazem é apresentada na Figura 1.

Figura 1 - Fórmula estrutural do cloridrato de diltiazem



O cloridrato de diltiazem é quase completamente absorvido pelo trato gastrointestinal após administração por via oral (aproximadamente 90%), possuindo extenso efeito de primeira passagem hepático, com biodisponibilidade absoluta de cerca de 40%. O início da ação ocorre em 15 a

30 minutos, com o pico em uma a duas horas. Sua meia-vida é de quatro a 7 horas. O diltiazem é biotransformado via citocromo P-450, principalmente pela isoenzima CYP3A4, sendo as principais vias de biotransformação a N-desmetilação, a desmetilação oxidativa, a desacetilação e a conjugação. Cerca de 2% a 4% da dose de diltiazem administrada é excretada em sua forma inalterada na urina. O diltiazem se encontra ligado a proteínas plasmáticas na proporção de 70% a 85% (AHFS DRUG INFORMATION, 2004; SILVA, 2010).

3.3 Apresentações comerciais do cloridrato de diltiazem disponíveis no mercado

Nos Estados Unidos, o cloridrato de diltiazem está disponível comercialmente sob as formas farmacêuticas comprimidos, cápsulas de liberação prolongada para administração uma ou duas vezes por dia, comprimidos de liberação prolongada para administração uma vez por dia e injeção intravenosa. No Brasil, essas formas farmacêuticas estão disponíveis comercialmente, com exceção dos comprimidos de liberação prolongada (AHFS DRUG INFORMATION, 2004).

O comprimido de liberação imediata (Cardizem) está disponível nas doses de 30 mg e 60 mg. Cápsulas de liberação prolongada utilizadas em esquema posológico de duas vezes ao dia (Cardizem SR) estão disponíveis nas doses de 90 mg e 120 mg. Cápsulas de liberação prolongada utilizadas em esquema posológico de uma vez ao dia (Cardizem CD) estão disponíveis nas doses de 180 mg e 240 mg (CARDIZEM, 2013).

Os tempos de concentração plasmática máxima ($t_{m\acute{a}x}$) são de duas a três horas após a administração de comprimidos de Cardizem, de quatro a 11 horas e de 10 a 14 horas, após a administração de cápsulas de Cardizem SR e Cardizem CD, respectivamente (AHFS DRUG INFORMATION, 2004).

3.4 Métodos analíticos para determinação de cloridrato de diltiazem por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE)

Os compêndios internacionais, como as Farmacopeias Americana 35ª edição (THE UNITED, 2012), Britânica 2014 (BRITISH, 2013) e Europeia 7ª edição (THE EUROPEAN, 2010), trazem monografias para o controle de qualidade de cloridrato de diltiazem insumo farmacêutico. Apenas as Farmacopeias Americana 35ª edição (THE UNITED, 2012) e Britânica 2014 (BRITISH, 2013) trazem monografias para o controle de qualidade de medicamentos contendo cloridrato de diltiazem.

Na literatura científica, são encontrados métodos analíticos para a determinação de cloridrato de diltiazem em insumo farmacêutico e formas farmacêuticas por espectrofotometria no ultravioleta. Além disso, são relatados vários métodos analíticos que utilizam a técnica de cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) para a determinação do fármaco em insumo farmacêutico, comprimidos e em matrizes biológicas (Tabela 1).

Tabela 1 - Métodos analíticos para determinação de cloridrato de diltiazem por Cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE)

Referência	Matriz	Fase móvel	Fase estacionária	Fluxo	Eluição	Deteção
Lacroix <i>et al.</i> , 1989; THE UNITED, 2012	Insumo farmacêutico e comprimidos	Acetato de sódio 0,1 M contendo ácido d-10-canforsulfônico 5 mM pH ajustado para 6,2 com NaOH 0,1 M / Metanol / Acetonitrila (50:25:25, v/v)	Waters μ -Bondapak C18 300 x 3,9 mm C18 300 x 3,9 mm	1,6 mL/min	Isocrática	UV, 240 nm
Chaudhary <i>et al.</i> , 1993	Soro humano	Acetonitrila / tampão fosfato de sódio dibásico 0,01 M (60:40, v/v), acrescido de 0,1% (v/v) de trietanolamina, pH ajustado para 3,0 com ácido fosfórico 85%	LiChrosorb RP-8 300 x 4,1 mm 10 μ m	1,2 mL/min	Isocrática	UV, 237 nm
Scully, Meehan & Kelly, 1996	Plasma de roedores	Solução de amônia / Metanol / Diclorometano / Hexano (0,3:35:30:370, v/v)	Sílica-gel 150 x 4,6 mm 5 μ m	2 mL/min	Isocrática	UV, 240 nm
Li, Zhang & Zhao, 2003	Plasma humano	Metanol / Trietilamina 2,8 mM em água (80:20, v/v)	Spherisorb C18 250 x 4,6 mm 10 μ m	1,2 mL/min	Isocrática	UV, 239 nm
Buur <i>et al.</i> , 2005	Gel transdérmico	Acetonitrila / NaH ₂ PO ₄ 0,02 M, pH 2,5 (33:67, v/v)	Atlantis C18 150 x 4,6 mm 5 μ m	1,0 mL/min	Isocrática	UV, 237 nm

Tabela 1 - Métodos analíticos para determinação de cloridrato de diltiazem por Cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) (continuação)

Referência	Matriz	Fase móvel	Fase estacionária	Fluxo	Eluição	Deteção
Quaglia <i>et al.</i> , 2005	Insumo farmacêutico	Tampão acetato de amônio + 0,2% de dietilamina pH 6,58 / Acetonitrila (60:40, v/v)	C8 Lichrospher 100 250 x 4,6 mm 5 µm C18 Chromolith Merck 100 x 4,6 mm 5 µm	1,5 mL/min	Isocrática	UV, 240 nm
Chatpalliwar, Porwal & Upmanyu, 2012	Insumo farmacêutico e comprimidos	Trietilamina 0,2% pH ajustado para 4,5 com ácido fosfórico / Acetonitrila (3:2, v/v)	Hypersil BDS C18 150 x 4,6 mm 5 µm	1,0 mL/min	Gradiente	UV, 240 nm
Sultana, Arayne & Shafi, 2007	Insumo farmacêutico e comprimidos	Metanol / Água (80:20, v/v), pH ajustado para 3,1 com ácido fosfórico	Hypersil C18 150 x 4,6 mm 5 µm	0,5 mL/min	Isocrática	UV, 236 nm
THE EUROPEAN, 2010; BRITISH, 2013	Insumo farmacêutico	Etanol anidro / Acetonitrila / KH ₂ PO ₄ 6,8 g/L, 0,1 mL de N,N- dimetiloctilamina, pH ajustado para 4,5 com ácido fosfórico (5:25:70, v/v)	C18 100 x 4,6 mm 3 µm	1,5 mL/min	Isocrática	UV, 240 nm

Tabela 1 - Métodos analíticos para determinação de cloridrato de diltiazem por Cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE) (continuação)

Referência	Matriz	Fase móvel	Fase estacionária	Fluxo	Eluição	Deteção
THE UNITED, 2012	Solução oral e suspensão oral	Acetato de sódio 0,1 M contendo ácido d-10-canforsulfônico 5 mM pH ajustado para 6,2 com NaOH 0,1 M / Metanol / Acetonitrila (2:1:1, v/v)	C18 250 x 4,6 mm 5 µm	1,5 mL/min	Isocrática	UV, 240 nm
THE UNITED, 2012	Cápsulas de liberação prolongada	KH ₂ PO ₄ 6,9 g/L pH ajustado para 3,0 com HCl 0,1 N. Adição de 0,5 mL de trietilamina.	C8 150 x 4,6 mm 5 µm	1 mL/min	Isocrática	UV, 240 nm
USP, 2013 (UHPLC)	Insumo farmacêutico, injeção, comprimidos e cápsulas	0,1% solução de amônia 30% em água pH ajustado para 6,0 com ácido acético / Acetonitrila (3:2, v/v)	C18 100 x 2,1 mm 1,7 µm	0,4 mL/min	Gradiente	DAD, 240 nm
Nishi & Nagamatsu, 2014 (UHPLC)	Insumo farmacêutico e comprimidos	Tampão fosfato 0,05 M pH 3,0 / Metanol (35:65, v/v)	Sunshell C18 100 x 4,6 mm 2,6 µm	1,0 mL/min	Isocrática	UV, 254 nm

3.5 Produtos manipulados

A RDC 67 de 8 de outubro de 2007, que dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano, define farmácia como estabelecimento de manipulação de fórmulas magistrais e oficinais, de comércio de correlatos, drogas e insumos farmacêuticos, abrangindo os estabelecimentos de dispensação bem como os de atendimento privativo de hospitais ou de outras unidades de assistência médica (BRASIL, 2007).

Com o surgimento da indústria farmacêutica no Brasil a partir de 1950, as farmácias magistrais quase desapareceram. Elas ressurgiram no final da década de 1980 e hoje representam uma importante parcela do mercado brasileiro de medicamentos (BONFILIO *et al.*, 2010).

Alguns dados demonstram a importância do setor magistral no Brasil. De acordo com dados da Associação Nacional de Farmacêuticos Magistrais (ANFARMAG), a farmácia magistral representa cerca de 10% do mercado brasileiro de medicamentos. Em 1998, existiam no Brasil cerca de 2.100 farmácias, com a previsão de 5.356 farmácias em 2004. O crescimento do segmento foi de 5% em 2002, faturando cerca de R\$1,3 bilhão. Atualmente, são mais de 5.500 farmácias no Brasil, gerando 60.000 empregos diretos e 240.000 indiretos, movimentando cerca de um bilhão de dólares por ano. Além disso, os medicamentos manipulados tendem a ser economicamente mais vantajosos para os clientes em relação aos medicamentos referência, similar e genérico (LEAL; SILVA; SANTANA, 2007; BONFILIO *et al.*, 2010).

No Brasil, diferentemente de outros países, as farmácias magistrais estão autorizadas a manipular medicamentos em dosagens já disponibilizados no mercado pela indústria farmacêutica (PINHEIRO, 2008). Esses medicamentos são, muitas vezes, tratados como alternativas terapêuticas aos produtos industrializados pelos profissionais prescritores. Nos Estados Unidos, as farmácias magistrais não são autorizadas a manipular medicamentos nas mesmas doses dos medicamentos industrializados já disponíveis no mercado (UNITED STATES, 2013).

3.6 Estudos comparativos da qualidade de produtos manipulados e industrializados

Poucos trabalhos comparando cápsulas magistrais e medicamentos industrializados são encontrados na literatura. Não foi encontrado estudo que comparasse a qualidade de cápsulas magistrais e comprimidos de cloridrato de diltiazem.

Em estudo realizado com a finalidade de comparar cápsulas magistrais e industrializadas de amoxicilina em relação ao teste de dissolução e perfil de dissolução foram testados três produtos industrializados e dois produtos magistrais, sendo três lotes de cada produto industrializado e dois lotes de cada produto magistral. Dos cinco produtos, dois foram considerados inequivalentes ao medicamento referência, sendo um produto industrializado e um produto magistral (CAIAFFA *et al.*, 2002).

Em estudo realizado no município de Erechim-RS, foi avaliada a qualidade de cápsulas manipuladas de prednisona em comparação aos comprimidos do medicamento genérico, industrializado. Os autores realizaram os testes de determinação de peso, desintegração, doseamento e perfil de dissolução para avaliar a qualidade físico-química dos produtos manipulados. As cápsulas magistrais cumpriram com os testes de determinação de peso, desintegração e doseamento e não cumpriram com o teste de perfil de dissolução, tendo apresentado diferenças significativas nos perfis de dissolução em relação ao perfil de dissolução do medicamento genérico (BARANCELLI & FERREIRA, 2007).

Em estudo realizado no município de Santa Maria-RS foram comparadas amostras de cinco farmácias de manipulação com o medicamento referência de cloridrato de propranolol. Os produtos de duas farmácias de manipulação apresentaram porcentagem de cedência elevada, sugerindo problemas durante o processo de manipulação (JÚNIOR *et al.*, 2005).

4 CAPÍTULO I: CONTROLE DE QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM

4.1 Materiais e métodos

4.1.1 Materiais

4.1.1.1 Substância química de referência e amostra

Cloridrato de diltiazem SQR disponibilizado pela Farmacopeia Brasileira lote 1024 (lote corrente) e teor de 100,2% em relação à substância dessecada; matéria-prima cloridrato de diltiazem fabricada por Piramal Healthcare Limited, lote DIL/M-00610 com validade até setembro/2014 e teor de 99,7% em relação à substância dessecada.

4.1.1.2 Reagentes

- Água ultrapura, obtida de sistema de purificação MILLIPORE MILLI-Q DIRECT Q3.
- Reagentes grau analítico: ácido fórmico anidro, ácido perclórico, anidrido acético, ácido nítrico, nitrato de prata, hidróxido de amônio, metanol, diclorometano, etanol anidro.
- Solventes grau CLAE: metanol, ácido trifluoroacético.

4.1.1.3 Equipamentos

- Aparelho de ultrassom UNIQUE 1400.
- Balança analítica SARTORIUS com precisão de 0,01 mg modelo BP210D.
- Bomba de vácuo MILLIPORE.
- Espectrômetro SHIMADZU FTIR IR Prestige-21 com software IR Solution.
- Estufa NABERTHERM TR 60.
- Equipamento para determinação de ponto de fusão METTLER TOLEDO FP62.

- Pastilhador de prensa hidráulica SHIMADZU SSP-10A.
- Potenciômetro METROHM 827 pH Lab.
- Sistema de purificação de água MILLIPORE DIRECT Q3.
- Titulador automático METTLER TOLEDO DL53.

4.1.2 Métodos

4.1.2.1 Determinação da solubilidade

A solubilidade do cloridrato de diltiazem foi determinada, separadamente, em água, metanol, diclorometano e etanol anidro, segundo os procedimentos descritos a seguir.

Pesaram-se cerca de 100 mg da amostra e transferiu-se para um tubo de ensaio de 15 mL. Adicionou-se 0,1 mL de solvente e agitou-se o tubo de ensaio, que foi deixado em banho de ultrassom por 10 minutos. Verificou-se se a amostra se solubilizou completamente. Se a amostra não se solubilizou, adicionou-se mais 0,9 mL de solvente e agitou-se o tubo de ensaio, que foi deixado em banho de ultrassom por 10 minutos. Se a amostra não se solubilizou novamente, foram adicionados mais 9 mL de solvente e o tubo de ensaio foi agitado e posteriormente deixado em banho de ultrassom por 10 minutos. No caso de a amostra ainda não ter solubilizado, o conteúdo do tubo de ensaio foi transferido para um erlenmeyer de 125 mL, adicionaram-se mais 90 mL de solvente e o erlenmeyer foi agitado e deixado em banho de ultrassom por 10 minutos. A solubilidade da amostra foi classificada de acordo com os critérios da Farmacopeia Brasileira 5ª edição (FARMACOPEIA, 2010), conforme a Tabela 2. A tabela se refere a 1 g da substância em determinado volume em partes (mililitros) do solvente. Por exemplo, para que uma substância seja considerada solúvel em um solvente, 1 g da mesma deve se dissolver em 10 a 30 mL do solvente. Como a massa de amostra pesada foi de 100 mg, a quantidade de solvente utilizada foi proporcional à quantidade da amostra.

Tabela 2 - Termos descritivos de solubilidade e seus significados (FARMACOPEIA, 2010)

Solvente	Termo descritivo
Muito solúvel	Menos de 1 parte
Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
Solúvel	De 10 a 30 partes
Ligeiramente solúvel	De 30 a 100 partes
Pouco solúvel	De 100 a 1000 partes
Muito pouco solúvel	De 1000 a 10000 partes
Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10000 partes

4.1.2.2 Determinação do ponto de fusão

A amostra foi colocada em um capilar de vidro com uma das extremidades fechadas e submetida a aquecimento em equipamento de ponto de fusão automático. A temperatura inicial foi de 190 °C e a temperatura final foi de 230 °C, sendo a taxa de aquecimento de 2 °C/min. O ponto de fusão deve estar entre 207,5 e 212 °C (O'NEIL, 2006), sendo também relatado ponto de fusão de aproximadamente 213 °C, com decomposição (THE EUROPEAN, 2010).

4.1.2.3 Identificação

4.1.2.3.1 Reação do íon cloreto

Pesaram-se 10 mg da amostra e adicionaram-se cerca de 30 mL de água no balão volumétrico de 100 mL, que foi levado para banho de ultrassom por 10 minutos para facilitar a dissolução da amostra. Completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se. Adicionou-se 0,1 mL de ácido nítrico a 10 mL da amostra. Adicionou-se 1 mL de nitrato de prata 4,25% (p/v) e agitou-se o tubo manualmente. Adicionaram-se 2 mL de hidróxido de amônio 6 M e agitou-se o tubo. Deve-se obter um precipitado branco, insolúvel em ácido nítrico, mas solúvel em ligeiro excesso de hidróxido de amônio (FARMACOPEIA, 2010).

4.1.2.3.2 Espectrofotometria no infravermelho

O espectro de absorção na região do infravermelho do cloridrato de diltiazem foi obtido na faixa de números de onda de 4000 a 650 cm^{-1} . Foram preparadas pastilhas de cloridrato de diltiazem SQR e matéria-prima pesando-se 300 mg de brometo de potássio de grau espectroscópico e 1 mg de cloridrato de diltiazem, ambos previamente dessecados. O pó foi misturado e levado para prensa manual para preparação da pastilha. Obteve-se espectro na região do infravermelho para o cloridrato de diltiazem SQR e para o cloridrato de diltiazem matéria-prima. Os espectros foram comparados para confirmar a identidade da amostra.

4.1.2.4 pH

Dissolveu-se 1 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono e diluiu-se para 20 mL com o mesmo solvente. O potencial hidrogeniônico (pH) deve estar situado entre 4,3 e 5,3 (THE EUROPEAN, 2010).

4.1.2.5 Perda por dessecação

Pesaram-se, exatamente, cerca de 2 g da amostra, reduzida a pó fino, e transferiu-se para pesa-filtro chato previamente dessecado durante 30 minutos a 105 °C. Após o resfriamento do pesa-filtro em dessecador, pesou-se o pesa-filtro tampado contendo a amostra. Agitou-se brandamente o pesa-filtro para distribuir homogeneamente a amostra. O pesa-filtro foi colocado na estufa, retirou-se sua tampa, que também foi deixada na estufa. A amostra foi dessecada em temperatura de 105 °C por 2 horas. Após o tempo especificado, a amostra foi retirada da estufa e deixada para esfriar até temperatura ambiente em dessecador, sendo então pesada novamente. O teste foi realizado em duplicata. A perda não deve ser maior que 0,5% do peso, segundo as Farmacopeias Americana e Europeia (THE UNITED, 2012; THE EUROPEAN, 2010).

4.1.2.6 Doseamento

Pesaram-se, exatamente, cerca de 400 mg da amostra dessecada em um béquer. Adicionou-se uma mistura de 2 mL de ácido fórmico anidro e 60 mL de anidrido acético. Titulou-se a amostra com ácido perclórico 0,1 M SV, previamente

padronizado, utilizando-se titulador automático. Determinou-se o ponto final potenciométricamente. O teste foi realizado em triplicata. O teor da amostra deve estar entre 98,5 e 101,0% em relação à substância dessecada (THE EUROPEAN, 2010).

4.2 Resultados e discussão

4.2.1 Determinação da solubilidade

O cloridrato de diltiazem foi considerado facilmente solúvel em água, facilmente solúvel em metanol, facilmente solúvel em diclorometano e pouco solúvel em etanol anidro. Os termos descritivos de solubilidade foram os utilizados na Farmacopeia Brasileira, 5ª edição (FARMACOPEIA, 2010), contidos na Tabela 2. As classificações de solubilidade obtidas estão de acordo com as especificações presentes na monografia de cloridrato de diltiazem da Farmacopeia Europeia, 7ª edição (THE EUROPEAN, 2010).

4.2.2 Determinação do ponto de fusão

O ponto de fusão foi determinado em aparelho de ponto de fusão automático. O ponto de fusão determinado foi de 212,4 °C, compatível com a especificação relatada na Farmacopeia Europeia 7ª edição, de aproximadamente 213 °C, com decomposição (THE EUROPEAN, 2010).

4.2.3 Identificação

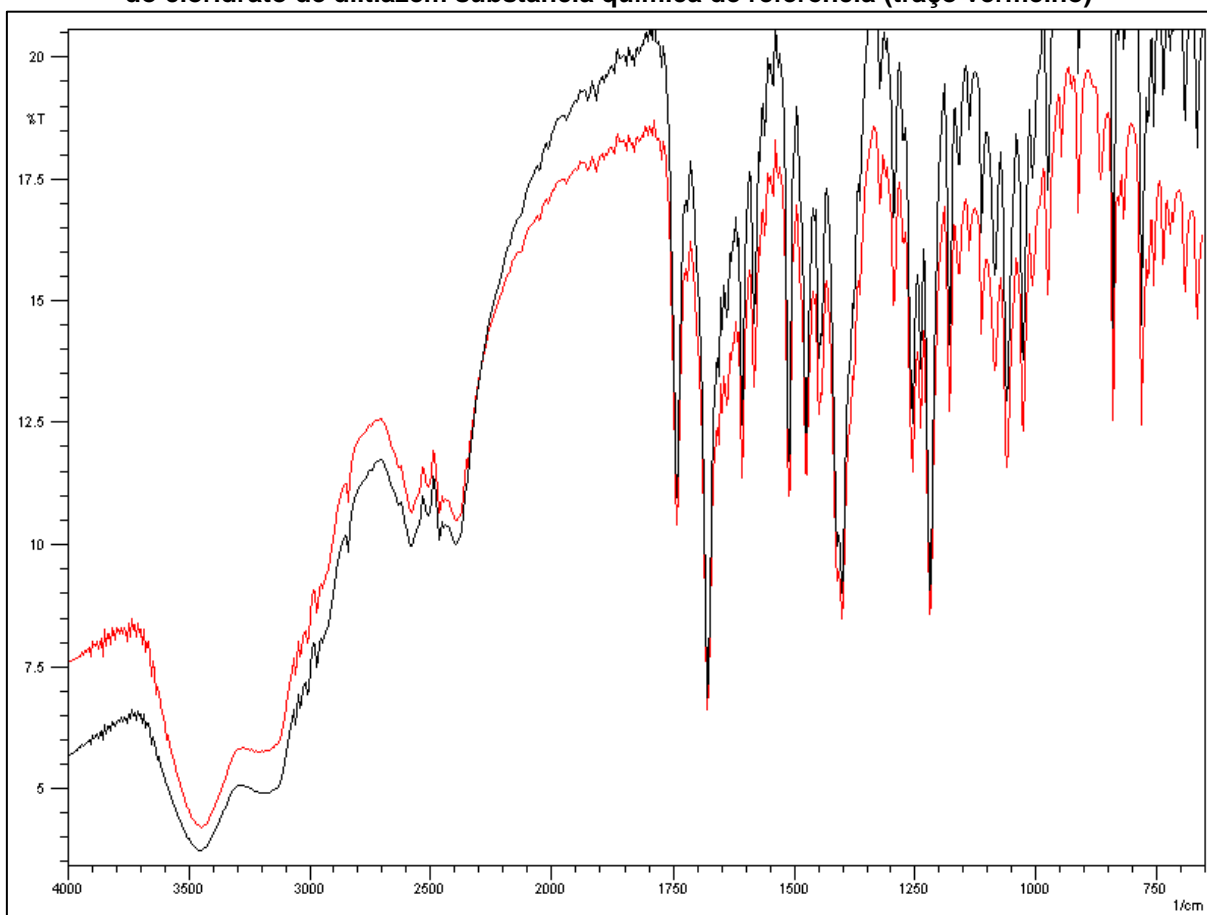
4.2.3.1 Reação do íon cloreto

Após a solução de cloridrato de diltiazem matéria-prima, previamente acidificada com ácido nítrico, ter reagido com nitrato de prata, houve a formação de um precipitado branco, insolúvel. A adição de solução de hidróxido de amônio em ligeiro excesso solubilizou o precipitado. O resultado é compatível com a presença de íons cloreto na amostra (FARMACOPEIA, 2010).

4.2.3.2 Espectroscopia no infravermelho

Espectros de infravermelho foram obtidos para a amostra e para a substância química de referência na faixa de número de ondas de 4000 a 650 cm^{-1} . Os espectros foram comparados para confirmar a identidade da amostra (Figura).

Figura 2 - Sobreposição dos espectros na região do infravermelho da amostra (traço preto) e do cloridrato de diltiazem substância química de referência (traço vermelho)



As bandas de absorção obtidas nos espectros de infravermelho para a amostra e para a SQR, bem como as atribuições relativas aos grupos funcionais da molécula, são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Números de onda e atribuições das bandas de absorção obtidas nos espectros de infravermelho da amostra e da SQR

Número de onda (cm^{-1})	Atribuição e grupo funcional
1742	Deformação axial da ligação dupla carbono-oxigênio de éster
1678	Deformação axial da ligação dupla carbono-oxigênio de amida

Tabela 4 - Números de onda e atribuições das bandas de absorção obtidas nos espectros de infravermelho da amostra e da SQR (continuação)

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuição e grupo funcional
1510	Deformação axial da ligação dupla carbono-carbono de compostos aromáticos
1475	Deformação axial da ligação dupla carbono-carbono de compostos aromáticos
1254 e 1026	Deformação axial da ligação carbono-oxigênio de éter aromático e éster

O espectro de infravermelho do diltiazem apresenta algumas bandas de absorção características: 1682, 1512, 1252 e 1033 cm⁻¹ (MOFFAT; OSSELTON; WIDDOP, 2004). Os espectros de infravermelho obtidos para a amostra e para a SQR apresentam bandas de absorção muito próximas desses valores. Além disso, a sobreposição dos dois espectros demonstra que se tratam da mesma substância, uma vez que possuem bandas de absorção nos mesmos comprimentos de onda e com intensidades semelhantes.

4.2.4 pH

O pH encontrado para a solução da amostra a 1% (p/v) foi de 5,28, valor de acordo com a especificação, de 4,3 a 5,3 (THE EUROPEAN, 2010).

4.2.5 Perda por dessecação

A perda por dessecação foi calculada utilizando-se os valores apresentados na Tabela 4. A perda média de peso foi de 0,12%, inferior à especificação de no máximo 0,5% (THE UNITED, 2012; THE EUROPEAN, 2010).

Tabela 5 - Perda por dessecação da amostra

n	Pesa-filtro + amostra (antes da dessecação) (g)	Pesa-filtro + amostra (após a dessecação) (g)	Amostra (g)	Perda por dessecação (%)
1	44,78618	44,78387	2,00537	0,1152
2	45,48150	45,47889	2,00699	0,1300
		MÉDIA		0,1226

4.2.6 Doseamento

O cloridrato de diltiazem foi titulado em meio não aquoso utilizando-se ácido perclórico 0,1 M SV previamente padronizado. Os volumes gastos de ácido perclórico foram corrigidos em função do fator de correção. O teste foi realizado em triplicata, e os resultados estão mostrados na Tabela 5. O teor médio de cloridrato de diltiazem na amostra foi de 100,76%, situado entre 98,5 e 101,0% (THE EUROPEAN, 2010).

Tabela 6 - Determinação do teor de cloridrato de diltiazem matéria-prima por titulação potenciométrica em meio não aquoso

N	Massa de cloridrato de diltiazem (mg)	Volume de ácido perclórico 0,1 M SV (mL)	Massa de cloridrato de diltiazem encontrada (mg)	Teor (%)
1	402,11	9,04770	409,03	101,72
2	402,44	8,91964	403,24	100,20
3	403,24	8,95053	404,64	100,35
		MÉDIA		100,76
		DPR		0,83

Com base nos testes de controle de qualidade realizados no cloridrato de diltiazem insumo farmacêutico ativo e nas monografias disponíveis em farmacopeias internacionais, foi elaborada uma proposta de monografia para a inclusão na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (APÊNDICE A - Proposta de monografia de cloridrato de diltiazem insumo farmacêutico ativo para inclusão na Farmacopeia Brasileira 6ª edição, página 132).

5 CAPÍTULO II: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA A LÍQUIDO DE ALTA EFICIÊNCIA PARA A DETERMINAÇÃO DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM EM COMPRIMIDOS E CÁPSULAS

5.1 Materiais e métodos

5.1.1 Materiais

5.1.1.1 Substância química de referência e amostras

Cloridrato de diltiazem SQR disponibilizado pela Farmacopeia Brasileira lote 1024 (lote corrente) e teor de 100,2%; comprimidos do medicamento de referência (cardizem), fabricados pelo laboratório Boehringer Ingelheim, contendo 30 mg de cloridrato de diltiazem (27,57 mg de diltiazem base), lote A05752 com validade até 09/2015; comprimidos do medicamento genérico, fabricados pelo laboratório EMS, contendo 30 mg de cloridrato de diltiazem (27,57 mg de diltiazem base), lote 566651 com validade até 08/2015; cápsulas magistrais, manipuladas por uma farmácia de Belo Horizonte, contendo 30 mg de cloridrato de diltiazem (27,57 mg de diltiazem base), com validade até 17/05/2014; cápsulas placebo, manipuladas por uma farmácia de Belo Horizonte, contendo apenas os excipientes da formulação, com validade até 17/05/2014; cloridrato de diltiazem matéria-prima, fabricada por Piramal Healthcare Limited, lote DIL/M-00610 com validade até setembro/2014 e teor de 99,7%.

5.1.1.2 Reagentes

- Água ultrapura.
- Papel de filtro quantitativo diâmetro 12,5 cm.
- Membrana de éster de celulose MILLIPORE com diâmetro de 47 mm e poros de 0,45 µm.
- Dispositivo para filtração.

- Reagentes grau analítico: ácido acético glacial, acetato de amônio, ácido fórmico, ácido clorídrico, hidróxido de sódio, peróxido de hidrogênio.
- Solventes grau CLAE: metanol, ácido trifluoroacético.

5.1.1.3 Equipamentos

- Aparelho de ultrassom UNIQUE 1400.
- Balança analítica SARTORIUS com precisão de 0,01 mg modelo BP210D.
- Banho-maria FULL GAUGE TIC-17C.
- Bomba de vácuo LABOPORT KNF N842.
- Coluna cromatográfica Purospher Star MERCK, octadecilsilano, capeada, comprimento de 150 mm, diâmetro interno de 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm.
- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência THERMO Surveyor equipado com desgaseificador, bomba quaternária, forno de colunas, injetor automático e detector de arranjo de diodos (DAD) na região do ultravioleta e visível.
- Pipetas automáticas calibradas BRAND TRANSFERPETTE.
- Potenciômetro METROHM 827 pH Lab.
- Sistema de purificação de água MILLIPORE DIRECT Q3.
- Software Excel 2007.

5.1.2 Métodos

5.1.2.1 Seleção e otimização das condições cromatográficas

Com a finalidade de estabelecer as melhores condições cromatográficas para a eluição isocrática do cloridrato de diltiazem realizou-se, inicialmente, gradientes exploratórios amplos com diferentes fases móveis aquosas. As condições cromatográficas para a realização dos gradientes exploratórios amplos são descritas na Tabela 6. Os modos de preparo das fases aquosas testadas são descritos a seguir.

A fase aquosa A (Ácido acético 0,1% v/v) foi preparada transferindo-se 1 mL de ácido acético glacial para balão volumétrico de 1000 mL. O volume foi completado com água ultrapura e a solução homogeneizada.

A fase aquosa B (ácido fórmico 0,1% v/v) foi preparada transferindo-se 1 mL de ácido fórmico para balão volumétrico de 1000 mL. O volume foi completado com água ultrapura e a solução homogeneizada.

A fase aquosa C (tampão acetato de amônio - ácido fórmico) foi preparada transferindo-se 154 mg de acetato de amônio para balão volumétrico de 1000 mL. Em seguida, 500 mL de água ultrapura foram adicionados e o balão agitado até solubilização do acetato de amônio. Adicionaram-se 250 µL de ácido fórmico, completou-se o volume com água ultrapura e homogeneizou-se.

A fase aquosa D (ácido trifluoroacético 0,05% v/v) foi preparada transferindo-se 500 µL de ácido trifluoroacético para balão volumétrico de 1000 mL. O volume foi completado com água ultrapura e homogeneizou-se.

Tabela 7 - Condições cromatográficas para os gradientes exploratórios amplos para eluição de cloridrato de diltiazem.

Parâmetros	Condições
Fase móvel e gradiente	Metanol:fase aquosa (5:95). Gradiente de metanol de 5% a 100% em 60 minutos.
Fluxo de fase móvel	1 mL/min
Volume de injeção	20 µL
Coluna	Purospher Star C ₁₈ , capeada, 150 x 4,6 mm, 5 µm
Temperatura da coluna	30 °C
Comprimento de onda	240 nm
Solução teste	Cloridrato de diltiazem 0,1 mg/mL em mistura de metanol:água (50:50)
Tempo de corrida	60 minutos

A partir dos resultados dos gradientes exploratórios, foram estabelecidas condições isocráticas para cada fase móvel testada utilizando-se os parâmetros descritos na Tabela 7. Nessas corridas isocráticas, foram avaliados os parâmetros de fator de retenção, número de pratos teóricos e fator de assimetria para o pico principal.

Tabela 8 - Estimativa da porcentagem de solvente orgânico para a primeira corrida isocrática baseada no tempo de retenção do último pico na corrida em gradiente (SNYDER *et al.*, 1997)

t_R do último pico (min)	Estimativa da porcentagem de solvente orgânico		
	k = 5	k = 10	k = 20
5	6	0	---
10	19	12	5
15	29	22	14
20	37	30	22
25	45	38	30
30	53	46	38
35	61	54	46
40	69	62	54
45	77	70	62
50	85	78	70
55	93	86	78
60	100	94	86
65	---	100	94

De acordo com Snyder e colaboradores (1997), utiliza-se o tempo de retenção do último pico do cromatograma e o fator de retenção desejado para estimar a composição da fase móvel para a eluição isocrática. Quando o cromatograma possui apenas um pico, utiliza-se o tempo de retenção do mesmo. Por exemplo, se o tempo de retenção do último pico no cromatograma é de 40 minutos e deseja-se um fator de retenção igual a 5, utiliza-se 69% de solvente orgânico para a eluição isocrática.

Em seguida, melhorou-se a condição cromatográfica selecionada alterando-se a proporção de solvente orgânico, com a finalidade de melhorar os parâmetros cromatográficos.

5.1.2.2 Cálculos dos parâmetros cromatográficos

Os parâmetros cromatográficos como tempo morto, fator de retenção, número de pratos teóricos, resolução, fator de assimetria e outros foram calculados conforme fórmulas relacionadas na Tabela 8 e as representações gráficas da Figura 3 e da Figura 4.

Tabela 9 - Símbolos e fórmulas utilizadas nos cálculos dos parâmetros cromatográficos (FARMACOPEIA, 2010; SNYDER *et al.*, 1997; AGILENT TECHNOLOGIES, 2014)

Símbolos	Parâmetros
t_0	Tempo do volume morto: tempo necessário para que uma substância não retida pela coluna chegue ao detector
t_r	Tempo de retenção: tempo necessário para que o analito percorra o trajeto injetor-coluna-detector
k	Fator de retenção: retenção do analito expressa como número de volumes mortos
	$k = \frac{t_r - t_0}{t_0}$
α	Fator de separação: razão entre dois fatores de retenção
	$\alpha = \frac{k_2}{k_1}$
W	Largura do pico: distância entre as duas tangentes às laterais do pico, medida à linha de base
$W_{h/2}$	Largura à meia altura: distância entre as duas tangentes às laterais do pico, medida à meia altura
R	Resolução: grau de separação entre picos adjacentes
	$R = \frac{1,18 (t_2 - t_1)}{W_{1,h/2} + W_{2,h/2}}$
N	Número de pratos teóricos: medida da eficiência da coluna
	$N = 5,54 \left(\frac{t_r}{W_{h/2}} \right)^2$
b	Distância da tangente direita até a linha perpendicular que liga o ápice do pico à linha de base a 10% da altura do pico
a	Distância da tangente esquerda até a linha perpendicular que liga o ápice do pico à linha de base a 10% da altura do pico
A_s	Fator de assimetria: medida do formato do pico
	$A_f = \frac{b}{a}$

Figura 3 - Separação cromatográfica de duas substâncias (FARMACOPEIA, 2010)

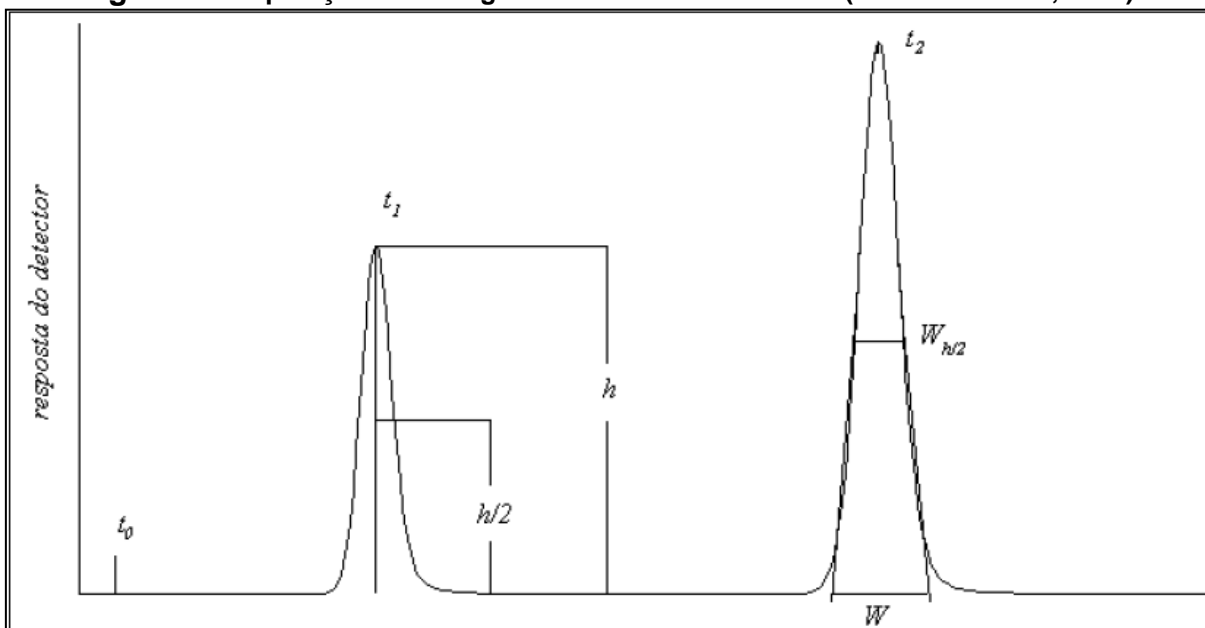
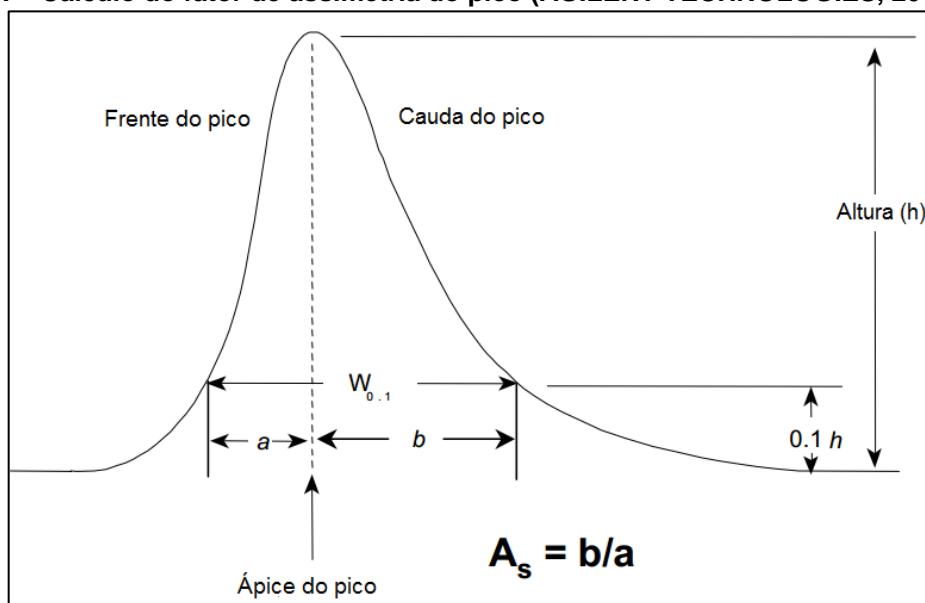


Figura 4 - Cálculo do fator de assimetria do pico (AGILENT TECHNOLOGIES, 2014)



5.1.2.3 Seletividade

5.1.2.3.1 Seletividade frente a produtos de degradação e otimização do método analítico

Para demonstrar a seletividade do método, avaliou-se a estabilidade do cloridrato de diltiazem frente a condições de estresse, como hidrólise ácida, hidrólise alcalina, hidrólise neutra e oxidação (Tabela 9).

O estudo da estabilidade intrínseca do cloridrato de diltiazem foi adaptado do estudo com o cloridrato de mefloquina, realizado por Nogueira (2007) e do estudo de Chatpalliwar, Porwal e Upmanyu (2012) com o cloridrato de diltiazem.

Para a preparação da solução estoque do fármaco, foram transferidos, exatamente, cerca de 10 mg de cloridrato de diltiazem para balão volumétrico de 50 mL. O volume foi completado com metanol e a solução homogeneizada, obtendo-se concentração de 0,2 mg/mL.

Tabela 10 - Estudo de estabilidade intrínseca do cloridrato de diltiazem

Tubos	Conteúdos
1	5 mL da solução estoque + 5 mL de ácido clorídrico 0,2 mol/L
2	5 mL da solução estoque + 100 µL de hidróxido de sódio 0,02 mol/L + 4,9 mL de água ultrapura
3	5 mL da solução estoque + 5 mL de água ultrapura
4	5 mL da solução estoque + 5 mL de peróxido de hidrogênio 6% v/v

As soluções para o estudo de degradação foram preparadas conforme Tabela 9. Foram preparados também tubos contendo 5 mL de metanol, ao invés da solução estoque, para servirem de branco da reação. Os tubos foram mantidos em banho-maria a 50 °C por 21 horas. Foram retiradas dos tubos alíquotas de 1 mL, nos tempos 0, 1, 2, 3, 6 e 21 horas, que foram transferidas para *vials*. Foi feita uma injeção de cada solução utilizando as condições cromatográficas definidas no desenvolvimento do método. As condições cromatográficas foram ajustadas de forma a se obter separação adequada entre os picos.

Para comprovar a capacidade do método analítico de separar o fármaco e todos os seus produtos de degradação, as soluções submetidas às condições de estresse (tubos 1 a 4) foram misturadas em iguais proporções. Uma solução em branco contendo todos os reagentes foi preparada e injetada. Todos os picos devem se apresentar separados dos demais com uma resolução mínima de 2,0.

As condições cromatográficas iniciais utilizadas para o estudo de degradação forçada estão demonstradas na Tabela 10.

Tabela 11 - Condições cromatográficas utilizadas como ponto de partida para a determinação de cloridrato de diltiazem nas amostras submetidas à degradação forçada durante o estudo de seletividade do método analítico.

Parâmetros	Condições
Fase móvel e gradiente	TFA 0,05% (v/v) em metanol:ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) (61:39).
Fluxo de fase móvel	1 mL/min
Volume de injeção	20 µL
Coluna	Purospher Star C ₁₈ 150 x 4,6 mm, 5 µm
Temperatura da coluna	30 °C
Comprimento de onda	240 nm
Solução teste	Cloridrato de diltiazem 30 µg/mL em mistura de metanol:água (50:50)
Tempo de corrida	10 minutos

As condições cromatográficas do método analítico para determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas foram otimizadas durante o estudo de degradação forçada de forma a se obter resolução mínima de 2,0 entre todos os picos. As condições cromatográficas melhoradas são mostradas na Tabela 11.

Tabela 12 - Condições cromatográficas para a determinação de cloridrato de diltiazem na presença de seus produtos de degradação otimizadas durante o estudo de seletividade do método analítico

Parâmetros	Condições
Fase móvel e gradiente	TFA 0,05% (v/v) em metanol:TFA 0,05% (v/v) em água (56:44).
Fluxo de fase móvel	1 mL/min
Volume de injeção	20 µL
Coluna	Purospher Star C ₁₈ 150 x 4,6 mm, 5 µm
Temperatura da coluna	30 °C

Tabela 11 - Condições cromatográficas para a determinação de cloridrato de diltiazem na presença de seus produtos de degradação otimizadas durante o estudo de seletividade do método analítico (continuação)

Parâmetros	Condições
Comprimento de onda	240 nm
Solução teste	Cloridrato de diltiazem a 30 µg/mL em mistura de metanol:água (50:50)
Tempo de corrida	14 minutos

5.1.2.3.2 Seletividade em relação aos excipientes das formulações

Para a comprovação da seletividade do método analítico para as formas farmacêuticas comprimido e cápsula, foram preparadas soluções a partir das cápsulas placebo e de uma mistura de excipientes dos comprimidos (Tabela 12), com a finalidade de se comprovar a ausência de pico interferente no tempo de retenção do cloridrato de diltiazem. As formulações dos comprimidos foram estimadas com base nas informações encontradas nas bulas e nas porcentagens usualmente empregadas para a produção de comprimidos (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). A formulação das cápsulas foi gentilmente cedida pela farmácia de manipulação, que preparou cápsulas placebo.

Tabela 13 - Composição estimada e função farmacotécnica dos excipientes das formulações de cápsulas e comprimidos utilizados para o teste de seletividade

Cardizem (medicamento referência)		
Excipiente	Proporção	Função farmacotécnica
Óleo de rícino hidrogenado	5%	Agente de liberação prolongada
Macrogol 6000	5%	Aglutinante
Estearato de magnésio	0,5%	Lubrificante
Lactose monoidratada	q.s.p. 100%	Diluyente
Cloridrato de diltiazem (medicamento genérico)		
Excipiente	Proporção	Função farmacotécnica
Óleo de rícino hidrogenado	5%	Agente de liberação prolongada
Macrogol 6000	5%	Aglutinante
Estearato de magnésio	0,5%	Lubrificante
Dióxido de silício	1,0%	Lubrificante
Lactose monoidratada	q.s.p. 100%	Diluyente

Tabela 12 - Composição estimada e função farmacotécnica dos excipientes das formulações de cápsulas e comprimidos utilizados para o teste de seletividade (continuação)

Cloridrato de diltiazem (cápsulas magistrais)		
Excipiente	Proporção	Função farmacotécnica
Celulose microcristalina	63%	Diluyente
Lactose monoidratada	20%	Diluyente

Além disso, a seletividade do método analítico também foi avaliada através da preparação de 3 soluções amostra contendo o diluyente, os excipientes e o cloridrato de diltiazem e 3 soluções amostra contendo apenas o diluyente e o cloridrato de diltiazem. As soluções foram injetadas e suas respostas foram comparadas pelo teste t de student, nível de significância de 5%, com a finalidade de se verificar possível interferência dos excipientes na resposta do cloridrato de diltiazem.

5.1.2.4 Linearidade

A linearidade foi avaliada construindo-se curva analítica para cloridrato de diltiazem em cinco níveis de concentração, na faixa de 50% a 150% da concentração de trabalho de cloridrato de diltiazem (30 µg/mL), como recomendado em legislações específicas (BRASIL, 2003; INTERNATIONAL, 2005).

Para a construção da curva analítica, foi preparada uma solução estoque de cloridrato de diltiazem SQR. A solução padrão estoque foi preparada pesando-se, exatamente, cerca de 30 mg de cloridrato de diltiazem SQR e transferindo-se para balão volumétrico de 200 mL. Foram adicionados cerca de 30 mL de metanol e o balão foi levado a banho de ultrassom por 10 minutos. O volume foi completado com o mesmo solvente e a solução homogeneizada.

As diluições foram feitas em triplicata, totalizando 15 soluções (Tabela 13). As soluções foram preparadas a partir de diluições da solução estoque realizadas utilizando-se uma bureta de 25 mL. As soluções foram preparadas aleatoriamente e posteriormente filtradas, transferidas para *vials* e injetadas uma vez no cromatógrafo aleatoriamente. Uma das soluções correspondentes a 100% da concentração de

trabalho foi injetada cinco vezes para verificar a adequabilidade do sistema. Incluiu-se uma corrida na qual se injetou água entre as injeções das soluções padrão.

Tabela 14 - Modo de preparo das soluções de cloridrato de diltiazem para avaliação da linearidade

Volume de solução padrão estoque (mL)	Água q.s.p. (mL)	Concentração (µg/mL)	Nível de concentração
5,0	50	15,0	50%
7,5	50	22,5	75%
10,0	50	30,0	100%
12,5	50	37,5	125%
15,0	50	45,0	150%

Testes estatísticos foram utilizados para verificar se os dados de regressão linear atendem às premissas para o método dos mínimos quadrados ordinários, como sugerido por Souza e Junqueira (2005) e demonstrado na Tabela 14.

Tabela 15 - Testes estatísticos aplicados aos dados de regressão linear

Outliers	Normalidade	Homocedasticidade	Independência
Resíduo Jackknife	Ryan-Joiner	Levene modificado	Durbin-Watson
Há outliers?	Dados seguem a distribuição normal?	Dados são homocedásticos?	Dados são independentes?

A curva analítica foi construída com os valores de área para cada nível de concentração de cloridrato de diltiazem. A regressão linear foi calculada pelo método dos mínimos quadrados ordinários. Todos os testes estatísticos foram realizados utilizando-se software Excel 2007.

5.1.2.5 Exatidão, precisão intraensaio e interensaios

A recuperação e a precisão do método foram avaliadas por adição de padrão a soluções preparadas a partir de comprimidos e cápsulas em três níveis de concentração, 50%, 100% e 150% da concentração de trabalho (30 µg/mL). A porcentagem de recuperação foi determinada. Foram preparadas seis replicatas por dia para cada nível de concentração, em dois dias. O preparo das soluções amostra para comprimidos e cápsulas é descrito a seguir.

A solução amostra para comprimidos foi preparada da seguinte forma: determinou-se o peso médio de 20 comprimidos, que foram triturados posteriormente. Transferiu-se, exatamente, quantidade de pó equivalente a 15 mg de cloridrato de diltiazem para balões volumétricos de 100 mL. Adicionou-se quantidade de cloridrato de diltiazem padrão de trabalho estabelecida na Tabela 15. Adicionaram-se cerca de 50 mL de metanol e levou-se o balão para banho de ultrassom por 10 minutos. Completou-se o volume com água e homogeneizou-se. A solução foi filtrada, descartando-se os primeiros 10 mL do filtrado. Transferiram-se 5 mL da solução para balão volumétrico de 50 mL, completou-se o volume com água e homogeneizou-se. A preparação das amostras para a avaliação da exatidão e precisão do método analítico para comprimidos é demonstrada na Tabela 15.

Tabela 16 - Preparação das amostras de comprimidos para avaliação da exatidão do método analítico

Solução fortificada	Massa de diltiazem na amostra (mg)	Massa de padrão de trabalho (mg)	Concentração teórica final (µg/mL)	Nível de concentração
1	15,0	---	15,0	50%
2	15,0	15,0	30,0	100%
3	15,0	30,0	45,0	150%

A solução amostra para as cápsulas foi preparada como se segue: determinou-se o peso médio do conteúdo de 20 cápsulas placebo. O conteúdo das cápsulas foi homogeneizado posteriormente. Transferiu-se, exatamente, quantidade de pó equivalente a um peso médio do conteúdo das cápsulas para balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se quantidade de cloridrato de diltiazem padrão de trabalho estabelecida na Tabela 16. Adicionaram-se cerca de 50 mL de metanol e levou-se o balão para banho de ultrassom por 10 minutos. Completou-se o volume com água e homogeneizou-se. A solução foi filtrada, descartando-se os primeiros 10 mL do filtrado. Transferiram-se 5 mL da solução para balão volumétrico de 50 mL, completou-se o volume com água e homogeneizou-se. A preparação das amostras para a avaliação da exatidão e precisão do método analítico para cápsulas é demonstrada na Tabela 16.

Tabela 17 - Preparação das amostras de cápsulas para avaliação da recuperação do método

Solução fortificada	Massa de diltiazem na amostra (mg)	Massa de padrão de trabalho (mg)	Concentração teórica final ($\mu\text{g/mL}$)	Nível de concentração
1	---	15,0	15,0	50%
2	---	30,0	30,0	100%
3	---	45,0	45,0	150%

As porcentagens de recuperação foram calculadas utilizando-se a fórmula:

$$\% \text{ Recuperação} = \frac{C_{\text{real}}}{C_{\text{teórica}}} \times 100$$

em que,

C_{real} = concentração de cloridrato de diltiazem determinada na amostra

$C_{\text{teórica}}$ = concentração de cloridrato de diltiazem esperada para a amostra após adição de quantidade conhecida do padrão ao placebo

Os valores de desvio padrão relativo para comprovação da precisão intraensaio e interensaios do método analítico devem ser inferiores a 5% (BRASIL, 2003). Entretanto, recomenda-se que os valores de DPR sejam inferiores a 2% (GREEN *et al.*, 1996).

A recuperação média em cada nível de concentração deve estar entre 98% e 102% (GREEN *et al.*, 1996).

5.1.2.6 Robustez e adequabilidade do sistema

A robustez de um método analítico é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos, indicando sua confiança durante o uso rotineiro. Os parâmetros avaliados foram: temperatura da coluna, fluxo de fase móvel e proporção de solvente orgânico na fase móvel, como demonstrado na Tabela 17. Foram preparadas 6 soluções amostra de comprimidos e 6 soluções amostra de cápsulas. Duas soluções padrão foram preparadas. O preparo das soluções é descrito a seguir. Cada solução padrão foi injetada cinco vezes em cada condição descrita na Tabela 17.

Tabela 18 - Parâmetros modificados para a avaliação da robustez do método de doseamento de cloridrato de diltiazem em formas farmacêuticas

Parâmetros/Condições	Nominal	1	2	3	4	5	6
% metanol	56	54	58	56	56	56	56
Fluxo (mL/min)	1,0	1,0	1,0	0,9	1,1	1,0	1,0
Temperatura (°C)	30	30	30	30	30	25	35

A solução amostra para comprimidos foi preparada como a seguir: determinou-se o peso médio de 20 comprimidos, que foram triturados posteriormente. Transferiu-se, exatamente, quantidade de pó equivalente a 30 mg de cloridrato de diltiazem (um peso médio) para balão volumétrico de 100 mL. Adicionaram-se cerca de 50 mL de metanol e levou-se o balão para banho de ultrassom por 10 minutos. Completou-se o volume com água e homogeneizou-se. A solução foi filtrada, descartando-se os primeiros 10 mL do filtrado. Transferiram-se, com o auxílio de uma pipeta volumétrica, 5 mL do filtrado para um balão volumétrico de 50 mL, completou-se o volume com água e homogeneizou-se, obtendo-se uma solução com concentração de 30 µg/mL.

A solução amostra para cápsulas foi preparada como descrito a seguir: determinou-se o peso médio do conteúdo de 20 cápsulas e homogeneizou-se posteriormente. Transferiu-se, exatamente, quantidade de pó equivalente a 30 mg de cloridrato de diltiazem (um peso médio do conteúdo) para balão volumétrico de 100 mL. Adicionaram-se cerca de 50 mL de metanol e levou-se o balão para banho de ultrassom por 10 minutos. Completou-se o volume com água e homogeneizou-se. A solução foi filtrada, descartando-se os primeiros 10 mL do filtrado. Transferiram-se, com o auxílio de uma pipeta volumétrica, 5 mL do filtrado para um balão volumétrico de 50 mL, completou-se o volume com água e homogeneizou-se, obtendo-se uma solução com concentração de 30 µg/mL.

As soluções padrão foram preparadas como descrito a seguir: pesaram-se 15 mg de cloridrato de diltiazem para balão volumétrico de 100 mL. Adicionaram-se 30 mL de metanol e levou-se o balão para banho de ultrassom por 10 minutos. O volume foi completado com água e a solução homogeneizada. Foram transferidos, com auxílio de uma pipeta volumétrica, 10 mL da solução preparada anteriormente para um

balão volumétrico de 50 mL. O volume foi completado com água e a solução homogeneizada, obtendo-se concentração de 30 µg/mL.

A partir dos resultados de teor de cloridrato de diltiazem obtidos foi feita uma análise de variância (ANOVA), nível de significância de 5%, para cada situação, com a finalidade de se verificar a influência de cada variação na resposta do método analítico.

Para estabelecer a adequabilidade do sistema cromatográfico, foram avaliados os seguintes parâmetros para o pico principal da solução padrão: fator de assimetria, fator de retenção, número de pratos teóricos e desvio padrão relativo das áreas de cinco injeções. O FDA recomenda que o número de pratos teóricos seja superior a 2000, que a resolução seja superior a 2,0 entre o pico principal e picos interferentes e que o desvio padrão relativo das áreas de cinco ou mais injeções seja menor ou igual a 1% (UNITED STATES, 1994).

5.1.2.7 Limite de detecção

O limite de detecção (LD) de um método analítico é a menor quantidade do analito em uma amostra que se pode detectar mas não necessariamente quantificar como um valor exato. O limite de detecção foi estimado com base no desvio padrão da resposta e da inclinação da curva analítica (INTERNATIONAL..., 2005), conforme a equação:

$$LD = \frac{3,3 \delta}{S}$$

em que,

δ = desvio padrão da resposta

S = inclinação da curva analítica

O limite de detecção foi posteriormente confirmado pela injeção de uma solução de cloridrato de diltiazem na mesma concentração obtida pela equação e depois foram

feitas diluições até que se obtivesse uma relação sinal/ruído de aproximadamente três.

5.1.2.8 Limite de quantificação

O limite de quantificação (LQ) de um método analítico é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser quantitativamente determinada com precisão e exatidão adequadas. O limite de quantificação foi estimado com base no desvio padrão da resposta e da inclinação da curva analítica (INTERNATIONAL..., 2005), conforme a equação:

$$LQ = \frac{10 \delta}{S}$$

em que,

δ = desvio padrão da resposta

S = inclinação da curva analítica

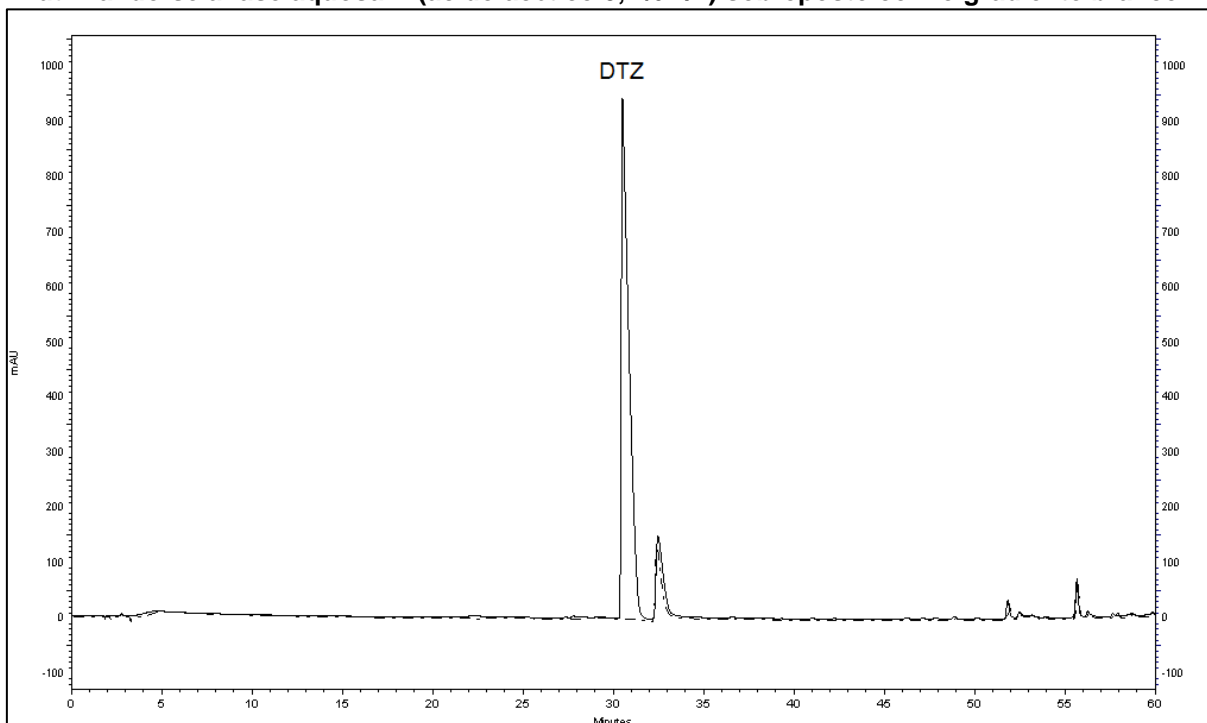
O limite de quantificação foi posteriormente confirmado pela injeção de uma solução de cloridrato de diltiazem na mesma concentração obtida pela fórmula e depois foram feitas diluições até que se obtivesse uma relação sinal/ruído de aproximadamente 10.

5.2 Resultados e discussão

5.2.1 Seleção e otimização das condições cromatográficas

Com o gradiente exploratório amplo utilizando-se a fase aquosa A (ácido acético 0,1% v/v), o diltiazem apresentou tempo de retenção de aproximadamente 30 minutos (Figura 5).

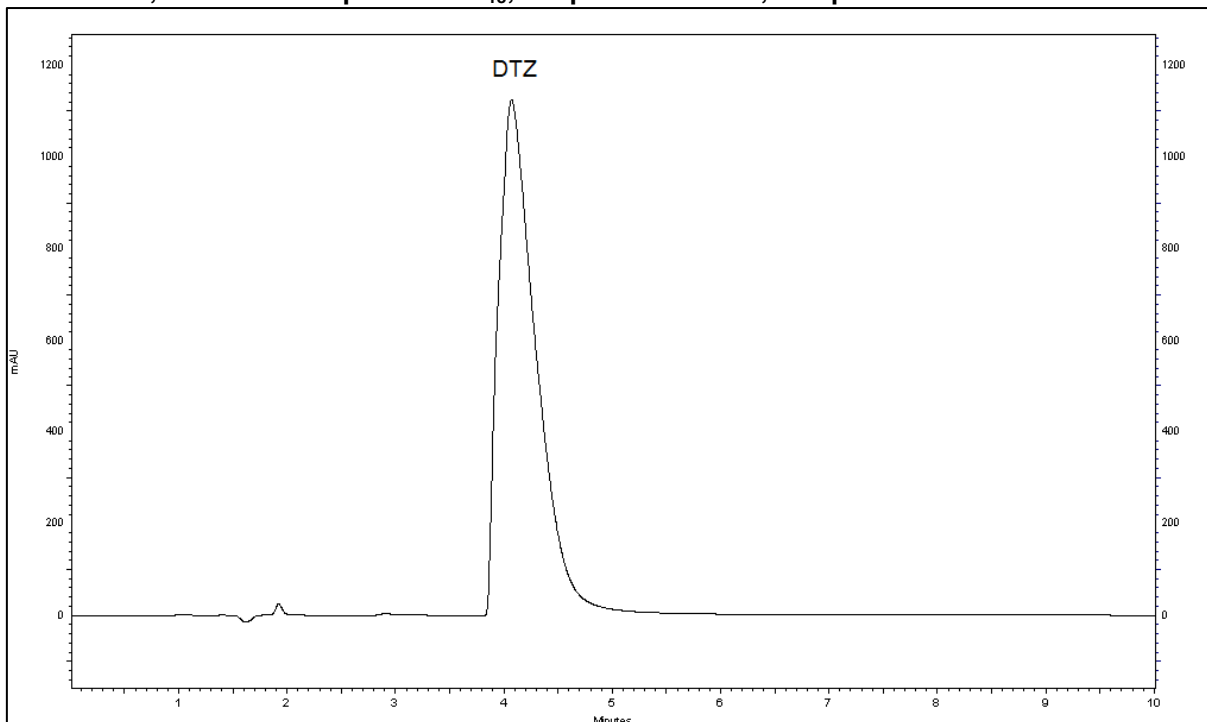
Figura 5 - Cromatograma do gradiente exploratório amplo para o cloridrato de diltiazem utilizando-se a fase aquosa A (ácido acético 0,1% v/v) sobreposto com o gradiente branco



Os demais picos presentes no cromatograma da eluição em gradiente com a fase aquosa A apareceram no gradiente branco, no qual não houve a injeção da amostra.

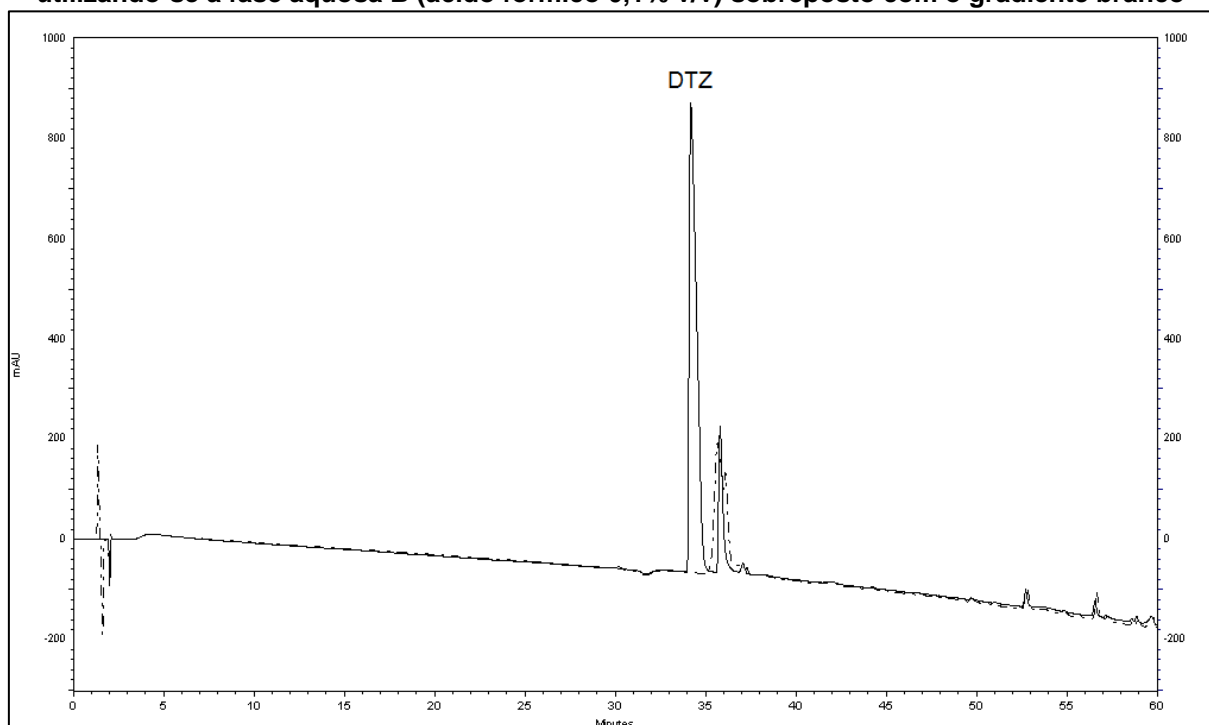
A porcentagem de metanol selecionada para a fase aquosa A (ácido acético 0,1% v/v) foi de 53%. Uma corrida isocrática foi realizada para confirmar a escolha (Figura 6). Foi observado um pico referente ao cloridrato de diltiazem com tempo de retenção de 5,848 minutos ($k = 2,44$).

Figura 6 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 4,072$ minutos; $k = 1,40$). Condições cromatográficas: metanol:ácido acético 0,1% v/v (53:47); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher Star C₁₈; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm



Com o gradiente exploratório amplo utilizando-se a fase aquosa B (ácido fórmico 0,1% v/v), o diltiazem apresentou tempo de retenção de aproximadamente 34 minutos (Figura 7).

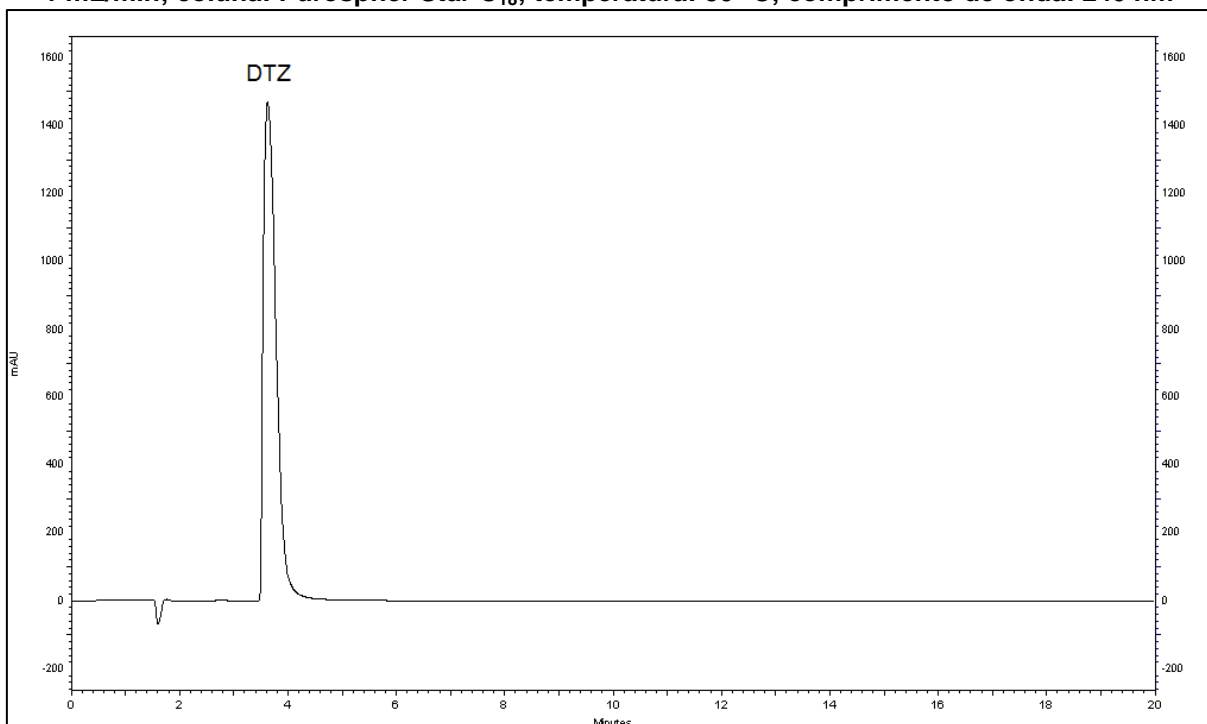
Figura 7 - Cromatograma do gradiente exploratório amplo para o cloridrato de diltiazem utilizando-se a fase aquosa B (ácido fórmico 0,1% v/v) sobreposto com o gradiente branco



Os demais picos presentes no cromatograma da eluição em gradiente com a fase aquosa B apareceram no gradiente branco, no qual não houve a injeção da amostra.

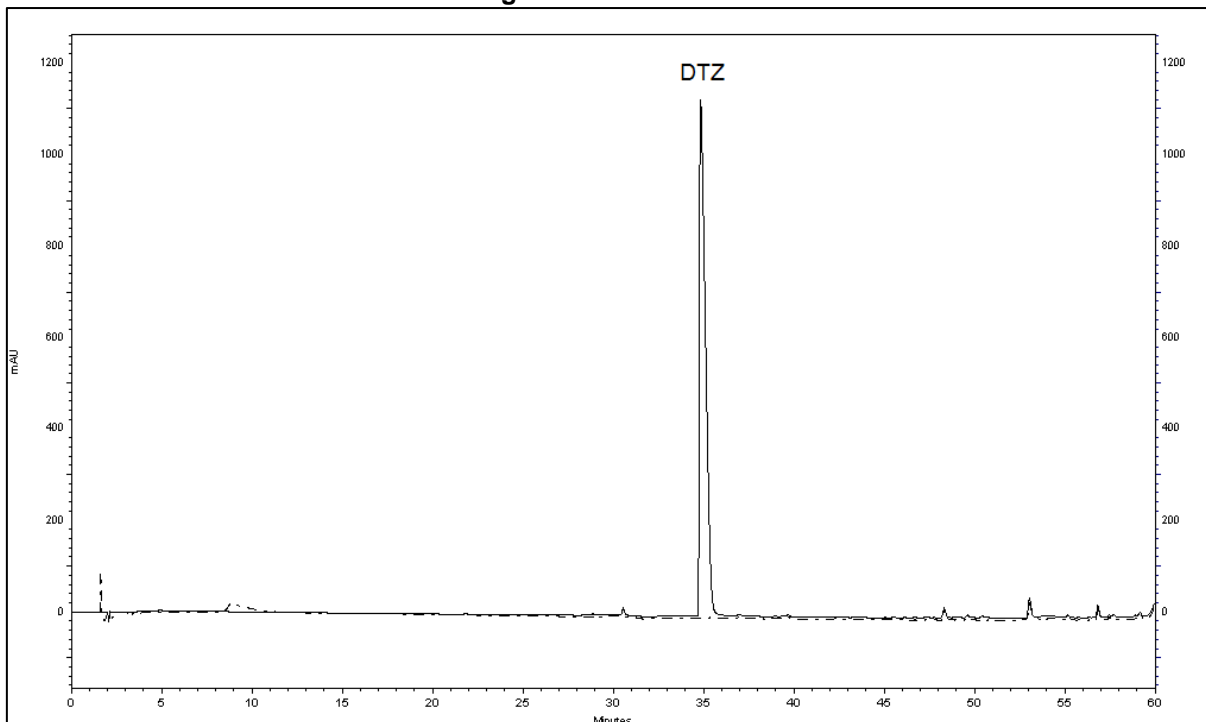
A porcentagem de metanol selecionada para a fase aquosa B (ácido fórmico 0,1% v/v) foi de 61%. Uma corrida isocrática foi realizada para confirmar a escolha (Figura 8). Foi observado um pico referente ao cloridrato de diltiazem com tempo de retenção de 3,828 minutos ($k = 1,29$).

Figura 8 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 3,828$ minutos; $k = 1,29$). Condições cromatográficas: metanol:ácido fórmico 0,1% v/v (61:39); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher Star C₁₈; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm



Com o gradiente exploratório amplo utilizando-se a fase aquosa C (tampão acetato de amônio - ácido fórmico), o diltiazem apresentou tempo de retenção de aproximadamente 35 minutos (Figura 9).

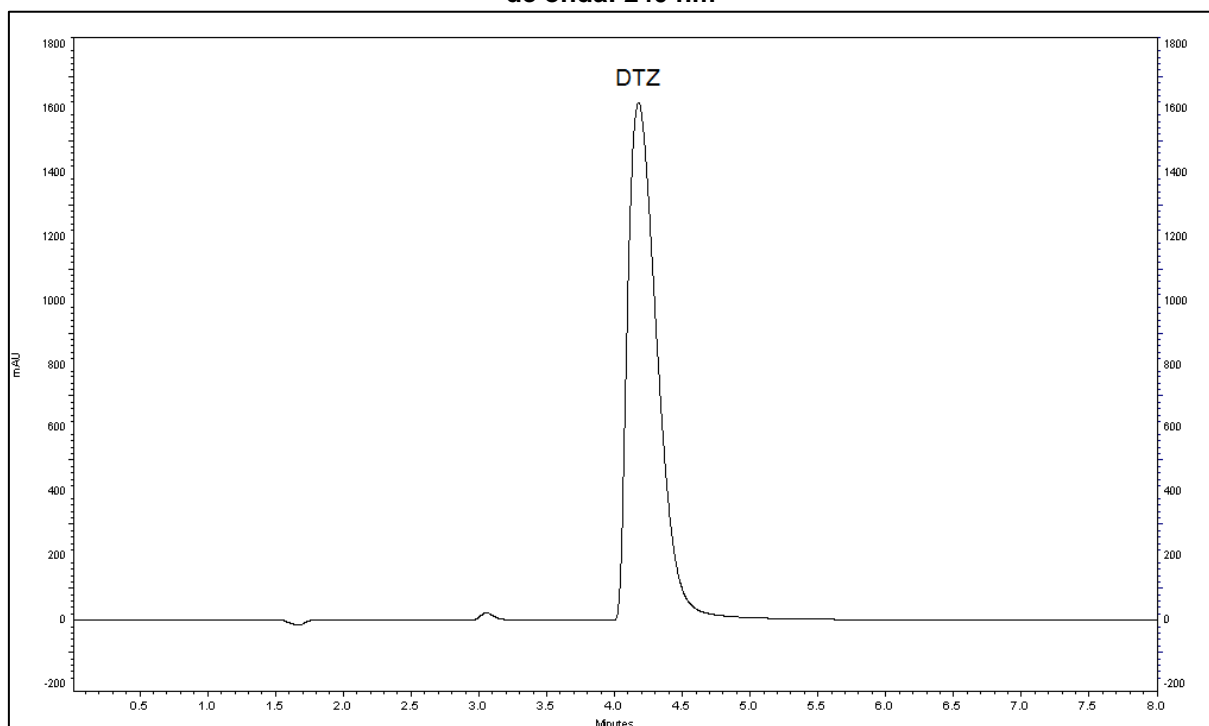
Figura 9 - Cromatograma do gradiente exploratório amplo para o cloridrato de diltiazem utilizando-se a fase aquosa C (tampão acetato de amônio - ácido fórmico) sobreposto com o gradiente branco



Os demais picos presentes no cromatograma da eluição em gradiente com a fase aquosa C apareceram no gradiente branco, no qual não houve a injeção da amostra.

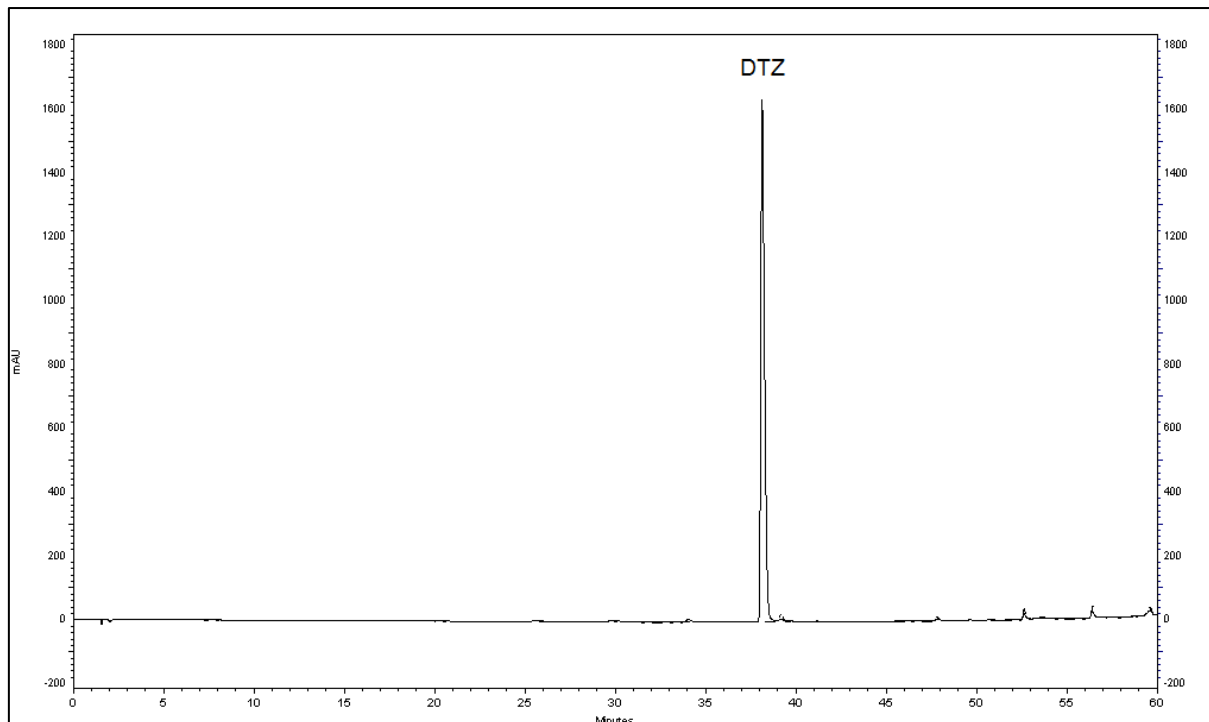
A porcentagem de metanol selecionada para a fase aquosa C (tampão acetato de amônio - ácido fórmico) foi de 61%. Uma corrida isocrática foi realizada para confirmar a escolha (Figura 10). Foi observado um pico referente ao cloridrato de diltiazem com tempo de retenção de 4,177 minutos ($k = 1,41$).

Figura 10 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 4,177$ minutos; $k = 1,41$). Condições cromatográficas: metanol:tampão acetato de amônio - ácido fórmico (61:39); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher Star C₁₈; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm



Com o gradiente exploratório amplo utilizando-se a fase aquosa D (ácido trifluoroacético 0,05% v/v), o diltiazem apresentou tempo de retenção de aproximadamente 38 minutos (Figura 11).

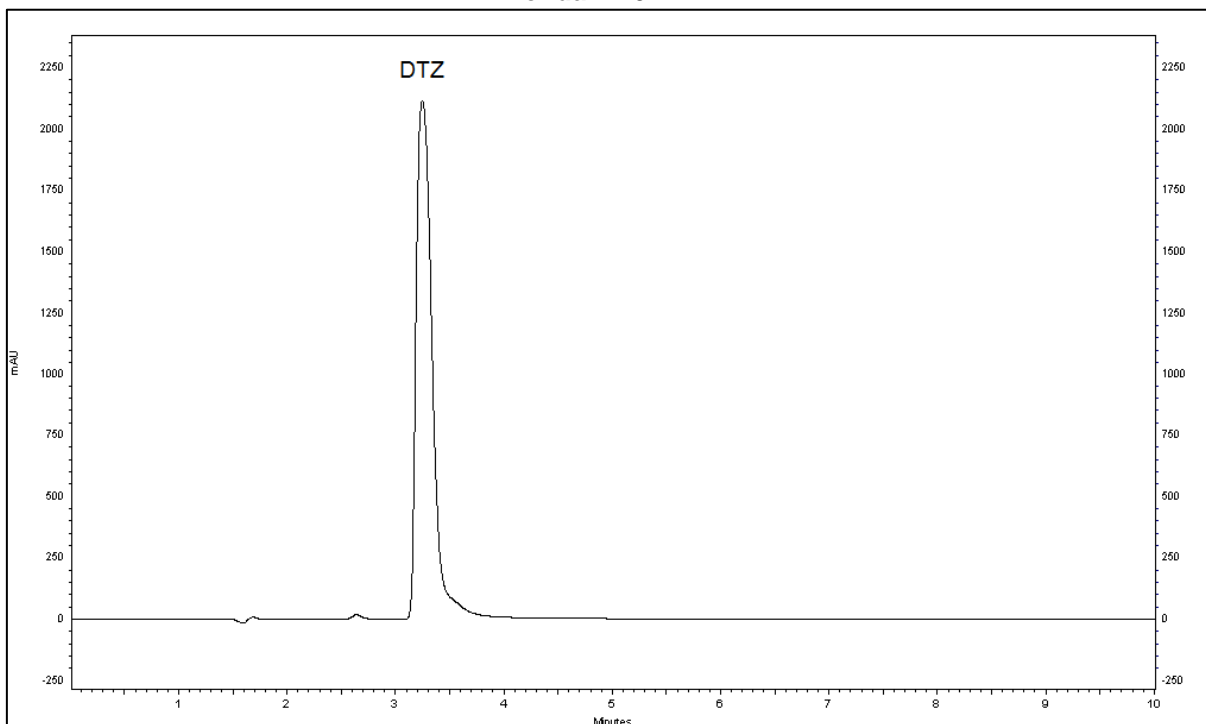
Figura 11 - Cromatograma do gradiente exploratório amplo para o cloridrato de diltiazem utilizando-se a fase aquosa D (ácido trifluoroacético 0,05% v/v) sobreposto com o gradiente branco



Os demais picos presentes no cromatograma da eluição em gradiente com a fase aquosa D apareceram no gradiente branco, no qual não houve a injeção da amostra.

A porcentagem de metanol selecionada para a fase aquosa D (ácido trifluoroacético 0,05% v/v) foi de 69%. Uma corrida isocrática foi realizada para confirmar a escolha (Figura 12). Foi observado um pico referente ao cloridrato de diltiazem com tempo de retenção de 3,247 minutos ($k = 0,94$).

Figura 12 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 3,247$ minutos; $k = 0,94$). Condições cromatográficas: metanol:ácido trifluoroacético 0,05% v/v (69:31); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher Star C₁₈; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm



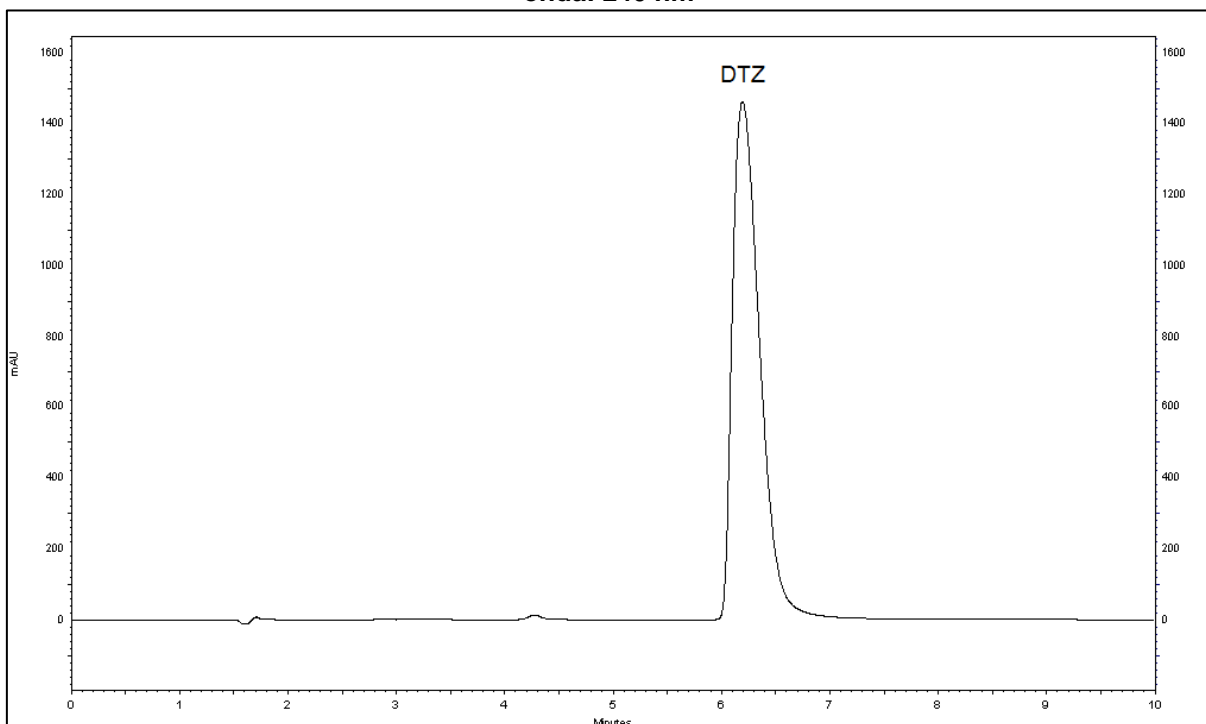
Após a realização das corridas isocráticas com todas as fases aquosas testadas, pôde-se constatar que os fatores de retenção obtidos para os picos de cloridrato de diltiazem foram inferiores a cinco. As condições cromatográficas utilizadas por Snyder e colaboradores (1997) para a eluição em gradiente com a finalidade de se estabelecer a porcentagem de solvente orgânico para a eluição isocrática diferem das condições utilizadas neste trabalho. Snyder e colaboradores (1997) utilizaram coluna com dimensões semelhantes, mas realizaram o gradiente com o solvente orgânico acetonitrila e fluxo de fase móvel de 2 mL/min, ao passo que nas eluições em gradiente para o cloridrato de diltiazem foi utilizado o solvente metanol e fluxo de fase móvel de 1 mL/min.

O metanol possui menor força eluente em relação à acetonitrila. Com isso, a utilização de metanol como solvente orgânico e um menor fluxo de fase móvel fez com que o tempo de retenção do cloridrato de diltiazem nas eluições em gradiente fosse maior, levando à utilização de maior porcentagem de solvente orgânico para a obtenção de um fator de retenção igual a cinco, o que, em última instância, fez com

que o pico de cloridrato de diltiazem nas eluições isocráticas tivesse um fator de retenção inferior ao estimado pela tabela.

A proporção de metanol utilizada para a fase móvel contendo ácido trifluoroacético levou a um baixo fator de retenção, sendo que o pico foi eluído próximo ao tempo morto. Dessa forma, a porcentagem de metanol foi diminuída para 61% com a finalidade de aumentar o fator de retenção (Figura 13).

Figura 13 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 6,193$ minutos; $k = 2,70$). Condições cromatográficas: metanol:ácido trifluoroacético 0,05% v/v (61:39); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher Star C₁₈; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm



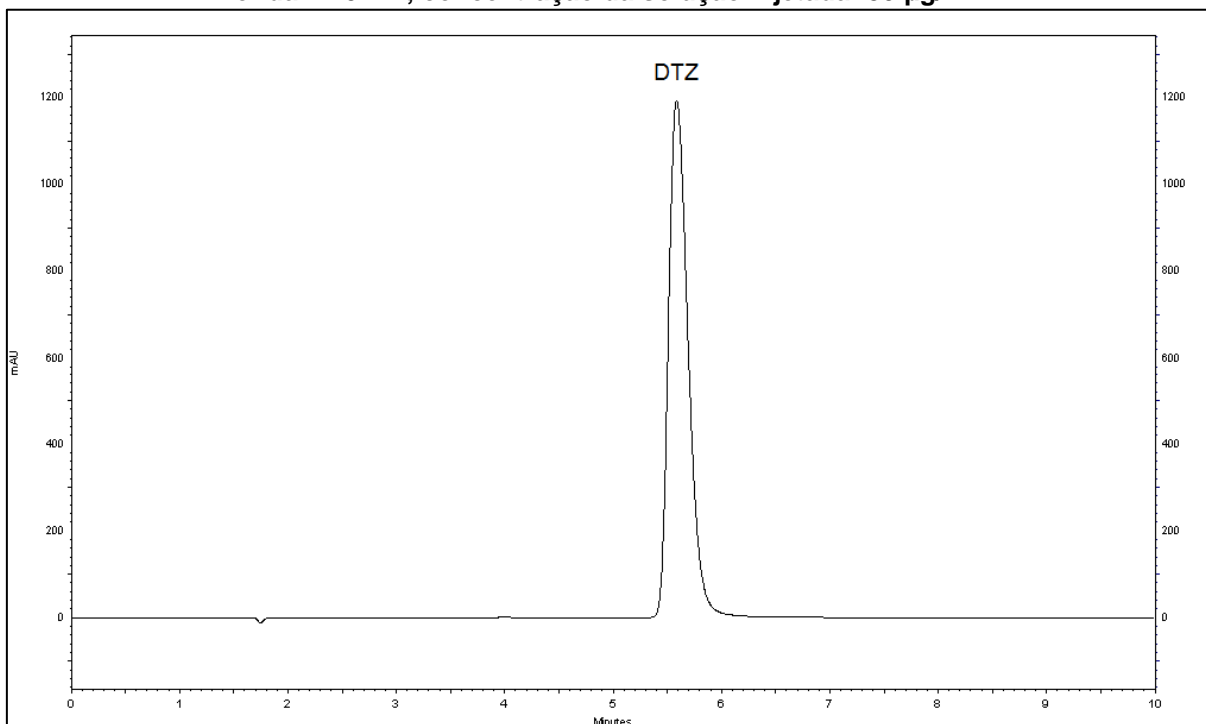
Alguns parâmetros de adequabilidade do sistema foram utilizados para selecionar a melhor fase móvel, tais como fator de retenção, número de pratos teóricos e fator de assimetria (Tabela 18).

Tabela 19 - Parâmetros de adequabilidade do sistema utilizados para a seleção da melhor fase móvel para o método analítico por CLAE

Fase móvel	Fator de retenção (k)	Número de pratos teóricos (N)	Fator de assimetria
metanol:ácido acético 0,1% v/v (53:47)	1,40	632	1,70
metanol:ácido fórmico 0,1% v/v (61:39)	1,29	1218	1,74
metanol:tampão acetato de amônio - ácido fórmico (61:39)	1,41	1806	1,59
A - metanol:ácido trifluoroacético 0,05% v/v (69:31)	0,94	2761	1,46
B - metanol:ácido trifluoroacético 0,05% v/v (61:39)	2,70	2974	1,56
C - TFA 0,05% em metanol:TFA 0,05% em água (61:39)	1,89	4687	1,29

A fase móvel selecionada para continuar o desenvolvimento do método analítico por CLAE foi a que contém ácido trifluoroacético na fase aquosa e na fase orgânica (C), já que apresentou os melhores valores dos parâmetros de adequabilidade do sistema, como fator de retenção adequado, maior número de pratos teóricos e menor valor de fator de assimetria. Como a fase móvel possui uma alta porcentagem de metanol, optou-se por adicionar o ácido trifluoroacético também ao metanol e reduzir a concentração de cloridrato de diltiazem na solução a ser injetada para 30 µg/mL, visando a diminuição do valor de fator de assimetria (Figura 14). Tais condições cromatográficas foram utilizadas como ponto de partida para a realização do teste de seletividade e otimização das condições cromatográficas conforme descrito na Tabela 10, citada na página 52.

Figura 14 - Cromatograma da eluição isocrática para o cloridrato de diltiazem ($t_R = 5,595$ minutos; $k = 2,34$). Condições cromatográficas: metanol:ácido trifluoroacético 0,05% v/v (61:39); fluxo: 1 mL/min; coluna: Purospher Star C₁₈; temperatura: 30 °C; comprimento de onda: 240 nm; concentração da solução injetada: 30 µg/mL



5.2.2 Seletividade

5.2.2.1 Seletividade frente a produtos de degradação e otimização do método analítico

Para a adequada separação entre os picos dos produtos de degradação gerados nos testes de estresse e o pico do cloridrato de diltiazem foram necessários ajustes nas condições cromatográficas utilizadas inicialmente no teste de seletividade.

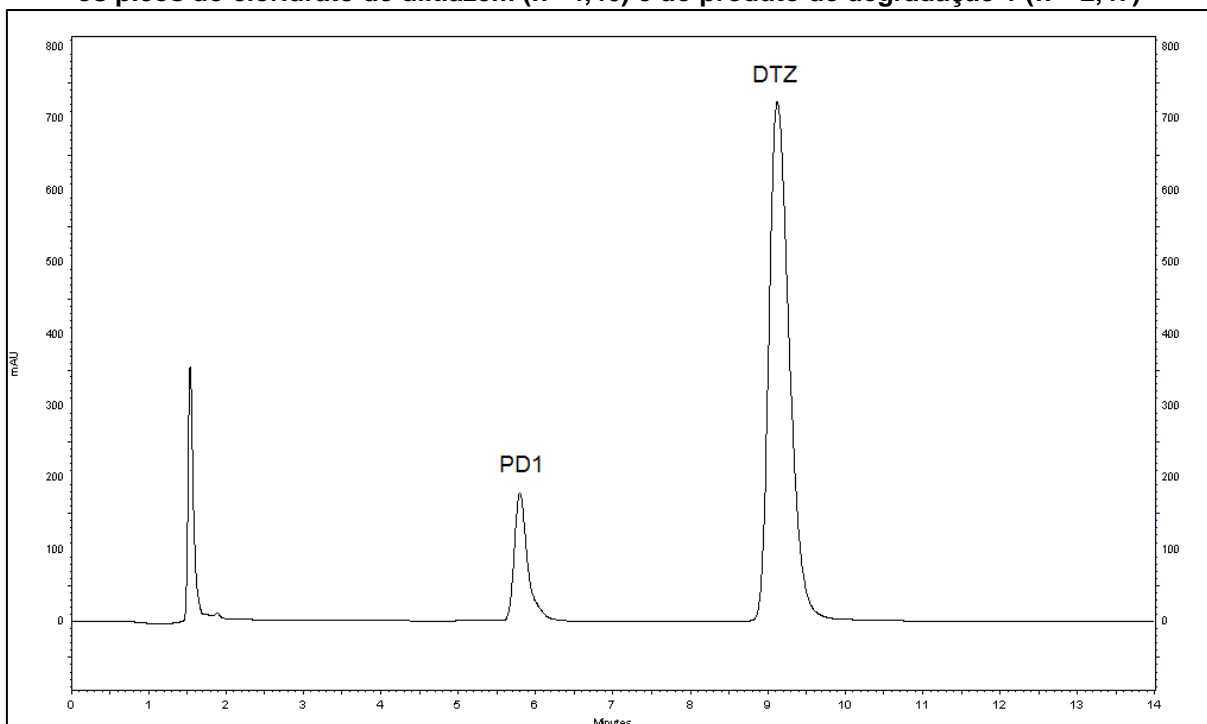
As condições cromatográficas ajustadas com o teste de seletividade foram as citadas na Tabela 11, página 52.

5.2.2.1.1 Hidrólise ácida

A condição selecionada para os estudos de degradação forçada em meio ácido foi a de submeter o cloridrato de diltiazem solubilizado em solução de ácido clorídrico à

temperatura de 50 °C por três horas. A degradação em meio ácido produziu apenas um produto de degradação, denominado, inicialmente, PD1 (Figura 15).

Figura 15 - Cromatograma obtido após degradação em meio ácido, no qual se pode observar os picos do cloridrato de diltiazem ($k = 4,46$) e do produto de degradação 1 ($k = 2,47$)



Os espectros de absorção obtidos pelo detector de arranjo de fotodiodos (Figura 16) foram semelhantes para o cloridrato de diltiazem e o produto de degradação formado, o que sugere que as duas substâncias possuem grupos cromóforos semelhantes.

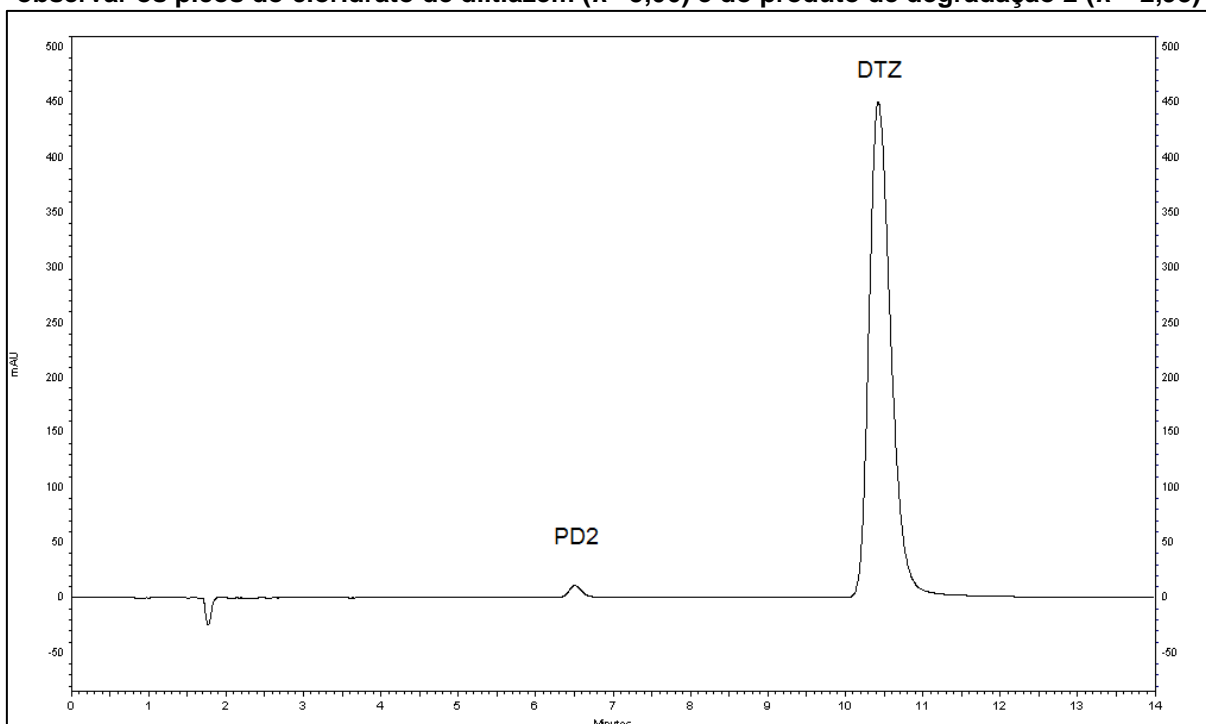
Figura 16 - Espectros de absorção para o produto de degradação em meio ácido e o cloridrato de diltiazem, respectivamente



5.2.2.1.2 Hidrólise em meio neutro

A condição selecionada para os estudos de degradação forçada em meio neutro foi a de submeter o cloridrato de diltiazem solubilizado em água à temperatura de 50 °C por 21 horas. A degradação em meio neutro produziu apenas um produto de degradação, denominado, inicialmente, PD2 (Figura 17).

Figura 17 - Cromatograma obtido após degradação em meio neutro, no qual se pode observar os picos do cloridrato de diltiazem ($k=5,06$) e do produto de degradação 2 ($k=2,93$)



Os espectros de absorção obtidos pelo detector de arranjo de fotodiodos (Figura 18) foram semelhantes para o cloridrato de diltiazem e o produto de degradação formado, o que sugere que as duas substâncias possuem grupos cromóforos semelhantes.

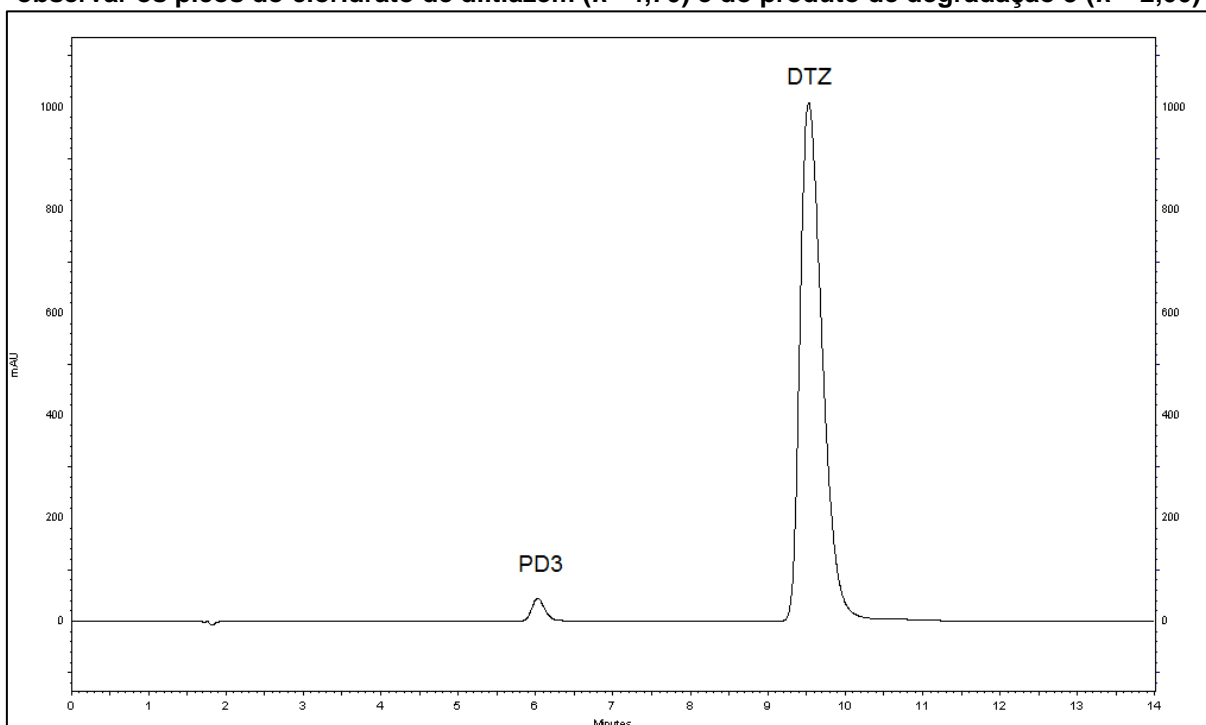
Figura 18 - Espectros de absorção para o produto de degradação em meio neutro e o cloridrato de diltiazem, respectivamente



5.2.2.1.3 Hidrólise alcalina

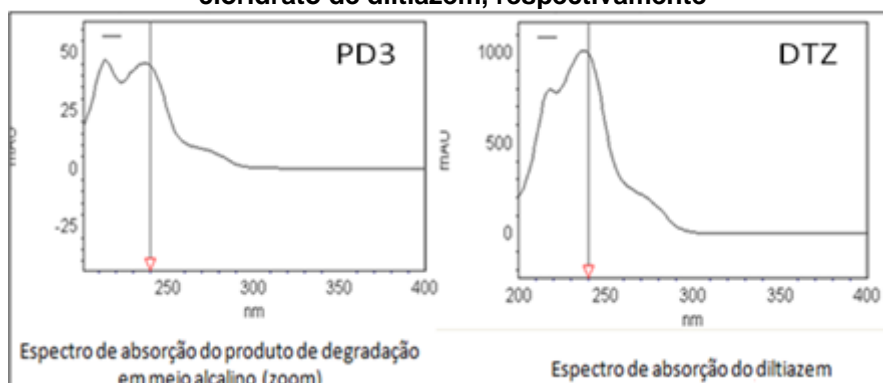
A condição selecionada para os estudos de degradação forçada em meio alcalino foi a de submeter o cloridrato de diltiazem solubilizado em solução de hidróxido de sódio à temperatura ambiente por uma hora. A degradação em meio alcalino produziu apenas um produto de degradação, denominado, inicialmente, PD3 (Figura 19).

Figura 19 - Cromatograma obtido após degradação em meio alcalino, no qual se pode observar os picos do cloridrato de diltiazem ($k=4,70$) e do produto de degradação 3 ($k=2,60$)



Os espectros de absorção obtidos pelo detector de arranjo de fotodiodos (Figura 20) foram semelhantes para o cloridrato de diltiazem e o produto de degradação formado, o que sugere que as duas substâncias possuem grupos cromóforos semelhantes.

Figura 20 - Espectros de absorção para o produto de degradação em meio alcalino e o cloridrato de diltiazem, respectivamente

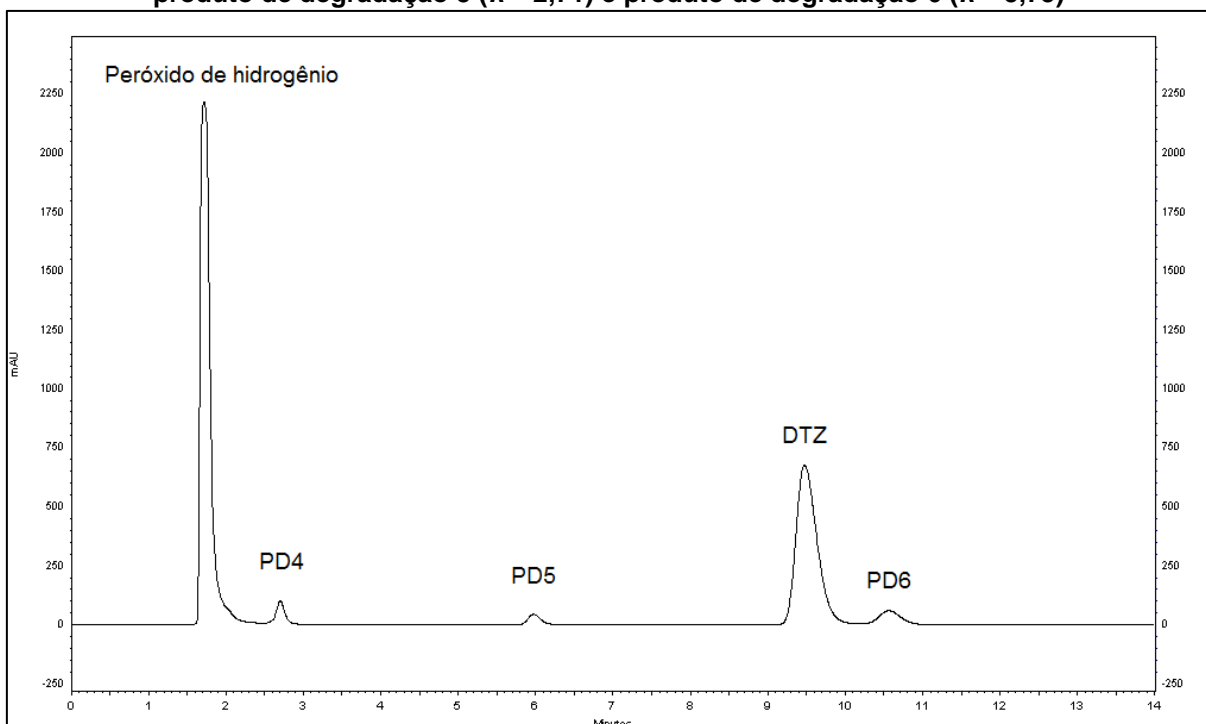


5.2.2.1.4 Estresse oxidativo

A condição selecionada para os estudos de degradação forçada em meio oxidativo foi a de submeter o cloridrato de diltiazem solubilizado em solução de peróxido de

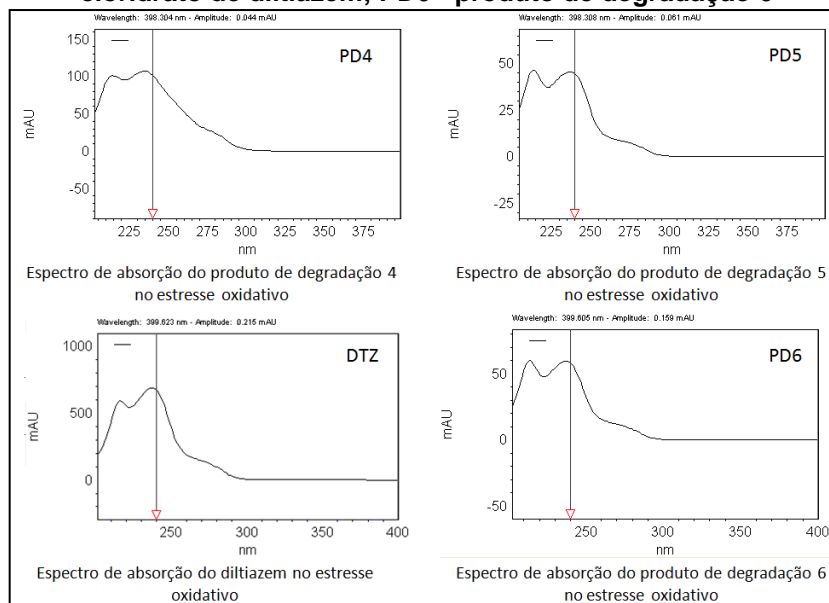
hidrogênio à temperatura de 50 °C por três horas. A degradação em meio oxidativo produziu três produtos de degradação, denominados, inicialmente, PD4, PD5 e PD6 (Figura 21).

Figura 21 - Cromatograma obtido após degradação em meio oxidativo, no qual se pode observar os picos do cloridrato de diltiazem ($k = 5,01$), produto de degradação 4 ($k = 0,61$), produto de degradação 5 ($k = 2,71$) e produto de degradação 6 ($k = 5,75$)



Os espectros de absorção obtidos pelo detector de arranjo de fotodiodos (Figura 22) foram semelhantes para o cloridrato de diltiazem e os produtos de degradação formados, o que sugere que tais substâncias possuem grupos cromóforos semelhantes.

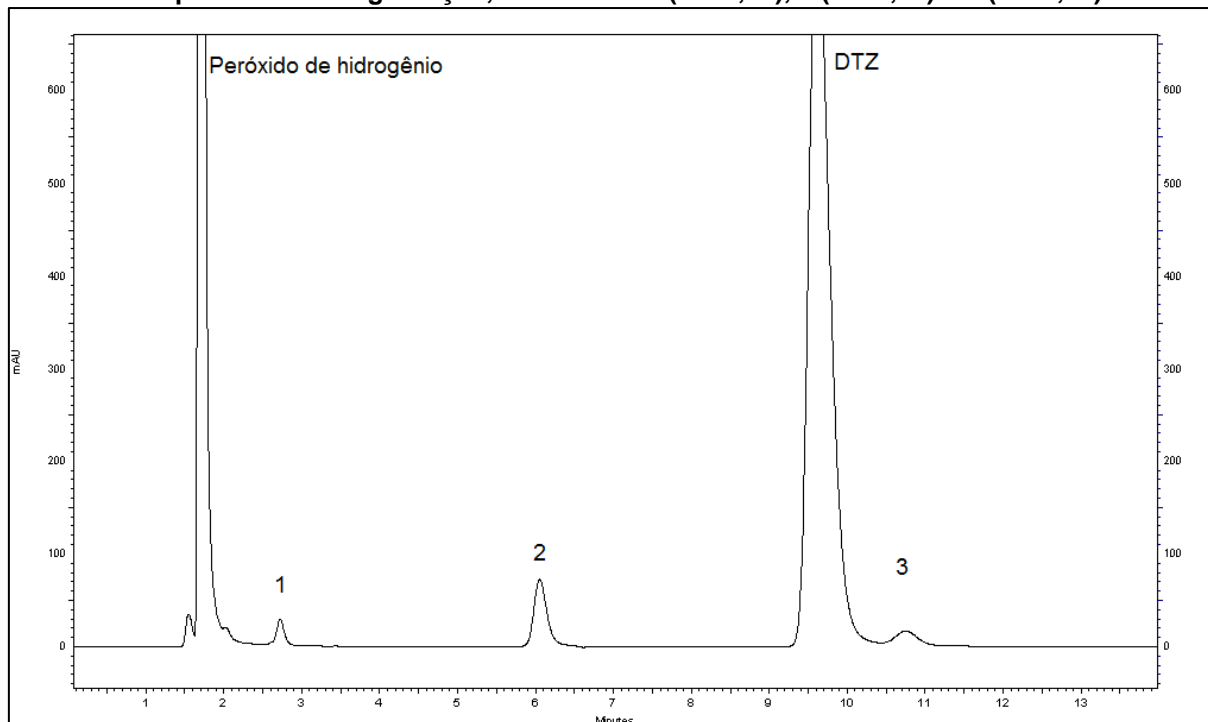
Figura 22 - Espectros de absorção para os produtos de degradação em meio oxidativo e o cloridrato de diltiazem. PD4 - produto de degradação 4; PD5 - produto de degradação 5; DTZ - cloridrato de diltiazem; PD6 - produto de degradação 6



5.2.2.1.5 Mistura das soluções submetidas a estresse nas diferentes condições

Para se comprovar a capacidade do método analítico de separar o fármaco e todos os seus produtos de degradação, as soluções submetidas às condições de estresse foram misturadas em iguais proporções. Uma solução em branco contendo todos os reagentes foi preparada e injetada. Todos os picos se apresentaram separados dos demais com uma resolução mínima de 2,0 (Figura 23).

Figura 23 - Cromatograma obtido após a mistura das soluções submetidas a estresse nas diferentes condições, no qual se pode observar o pico do cloridrato de diltiazem ($k=4,75$), e de três produtos de degradação, sendo eles 1 ($k=0,63$), 2 ($k=2,62$) e 3 ($k=5,43$)



Após a mistura das soluções submetidas a estresse, o cromatograma revelou o aparecimento de picos relativos a três produtos de degradação e ao cloridrato de diltiazem. Como o pico do produto de degradação 2 apresenta espectro de absorção semelhante aos espectros de absorção dos picos dos produtos de degradação encontrados na hidrólise neutra (PD2), hidrólise ácida (PD1), hidrólise alcalina (PD3) e estresse oxidativo (PD4), além de apresentarem fatores de retenção semelhantes, acredita-se que se tratam da mesma substância. Análises em cromatógrafo acoplado a detector de massas deverão ser feitas para verificar se são relativos à mesma substância.

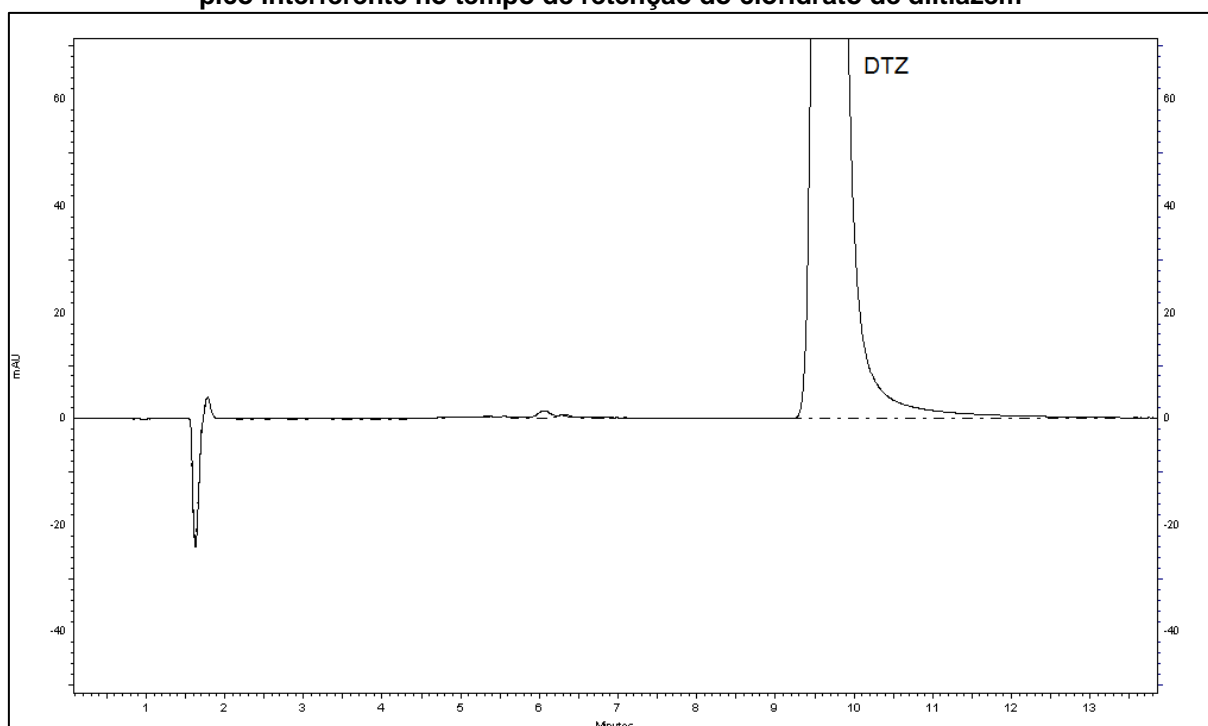
Dentre os vários métodos analíticos pesquisados, apenas um deles, relatado no trabalho de Chatpalliwar, Porwal & Upmanyu (2012), é um método analítico indicador de estabilidade, ou seja, é capaz de determinar o cloridrato de diltiazem na presença de seus produtos de degradação. Entretanto, o método analítico possui elevado tempo de corrida (pelo menos 60 minutos). O método analítico desenvolvido no presente trabalho foi capaz de diferenciar o pico do cloridrato de diltiazem dos picos de seus produtos de degradação, sendo ainda compatível com o acoplamento

com detector de massas, já que sua fase móvel é constituída de soluções de ácido trifluoracético em água e metanol. Além disso, possui tempo de corrida bem menor, de 14 minutos.

5.2.2.2 Seletividade em relação aos excipientes das formulações

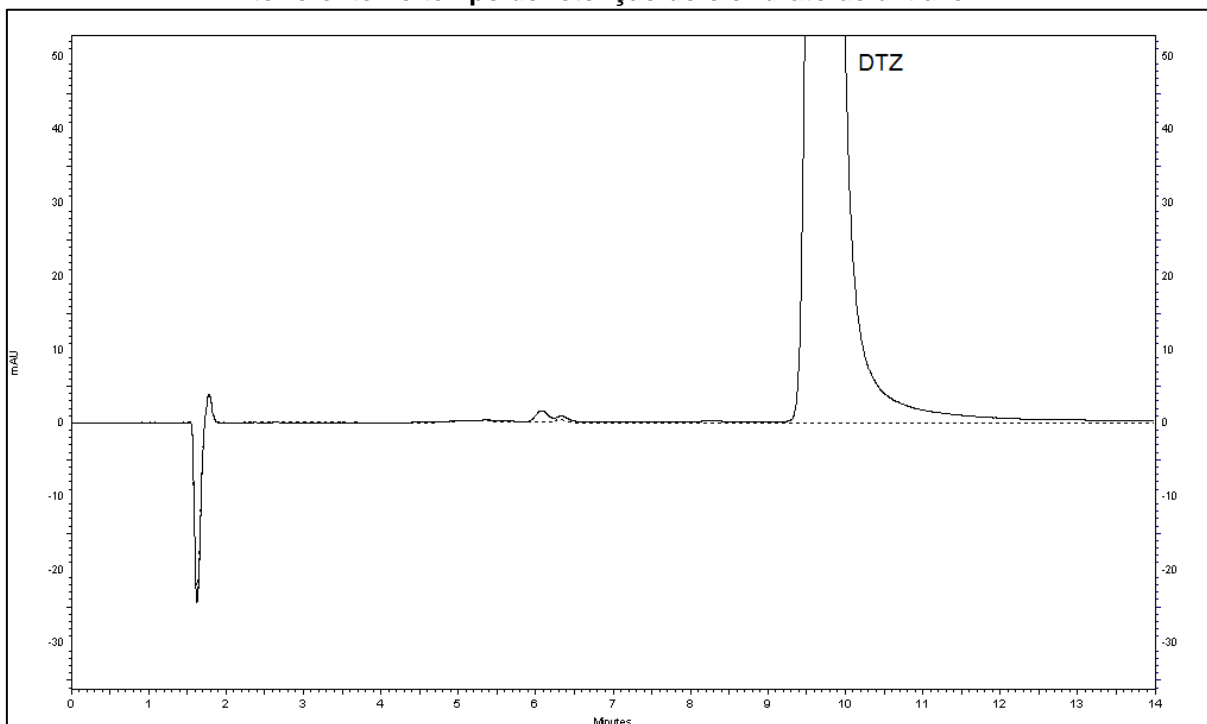
Após a injeção da solução preparada a partir dos excipientes do medicamento referência, não se observou a presença de picos no tempo de retenção do cloridrato de diltiazem (Figura 24).

Figura 24 - Sobreposição dos cromatogramas da solução amostra preparada a partir dos comprimidos do medicamento referência (linha cheia) e da solução amostra preparada a partir dos excipientes do medicamento referência (linha tracejada), demonstrando a ausência de pico interferente no tempo de retenção do cloridrato de diltiazem



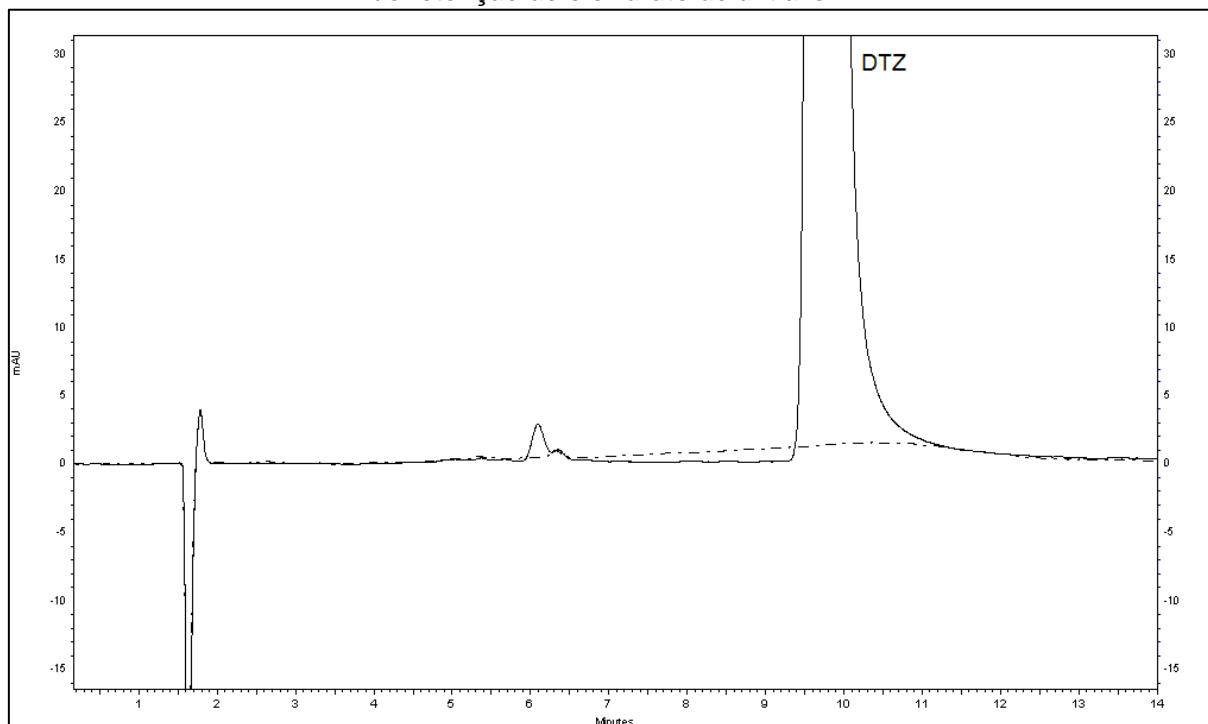
Após a injeção da solução preparada a partir dos excipientes do medicamento genérico, não se observou a presença de picos no tempo de retenção do cloridrato de diltiazem (Figura 25).

Figura 25 - Sobreposição dos cromatogramas da solução amostra preparada a partir dos comprimidos do medicamento genérico (linha cheia) e da solução amostra preparada a partir dos excipientes do medicamento genérico (linha tracejada), demonstrando a ausência de pico interferente no tempo de retenção do cloridrato de diltiazem



Após a injeção da solução preparada a partir dos excipientes das cápsulas magistrais, não se observou a presença de picos no tempo de retenção do cloridrato de diltiazem (Figura 26).

Figura 26 - Sobreposição dos cromatogramas da solução amostra preparada a partir das cápsulas magistrais (linha cheia) e da solução amostra preparada a partir dos excipientes das cápsulas magistrais (linha tracejada), demonstrando a ausência de pico interferente no tempo de retenção do cloridrato de diltiazem



A seletividade do método analítico também foi avaliada por meio da preparação de soluções contendo apenas o fármaco solubilizado no diluente e de soluções contendo o fármaco e os excipientes solubilizados no diluente. Foram preparadas três soluções contendo o diluente, os excipientes e o cloridrato de diltiazem e três soluções contendo apenas o diluente e o cloridrato de diltiazem. As médias dos teores obtidos para as diferentes formulações (Tabela 19), referência, genérico e cápsulas magistrais, foram comparadas com a média dos teores obtidos com as soluções do fármaco apenas no diluente pelo teste t de *student*, com significância de 5%. Os resultados da comparação de média são apresentados na Tabela 20.

Tabela 20 - Teores (%) obtidos para as diferentes formulações no teste de seletividade do método analítico para determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas

Formulação	n	Massa de DTZ adicionada (mg)	Massa encontrada de DTZ (mg)	Teor (%)	Média de teor (%)
Fármaco + diluente	1	30,40	30,24	99,46	100,03
	2	30,04	30,13	100,32	
	3	30,14	30,23	100,30	

Tabela 19 - Teores (%) obtidos para as diferentes formulações no teste de seletividade do método analítico para determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas (continuação)

Formulação	n	Massa de DTZ adicionada (mg)	Massa encontrada de DTZ (mg)	Teor (%)	Média de teor (%)
Medicamento	1	30,88	30,64	99,22	
referência	2	30,36	30,61	100,81	100,13
	3	30,07	30,18	100,36	
Medicamento	1	30,14	30,31	100,55	
genérico	2	30,03	29,80	99,24	99,80
	3	30,19	30,07	99,61	
Cápsulas	1	30,11	29,83	99,06	
magistrais	2	31,01	30,85	99,49	99,47
	3	31,28	31,24	99,87	

Tabela 21 - Resultados obtidos na comparação de médias para o teste de seletividade do método analítico para determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas

	Valor-p			
	Fármaco + diluente	Referência	Genérico	Cápsulas magistrais
Fármaco + diluente	---	0,86	0,66	0,21

As comparações das médias de teores das formulações com a média de teores obtidos diluindo-se o fármaco apenas em diluente não demonstrou, para todas as situações, diferenças estatisticamente significativas, demonstrando que os excipientes não podem ser considerados interferentes para a determinação de cloridrato de diltiazem nas formas farmacêuticas analisadas.

5.2.3 Linearidade

A linearidade foi avaliada construindo-se curva analítica para cloridrato de diltiazem em cinco níveis de concentração, na faixa de 50% a 150% da concentração de trabalho de cloridrato de diltiazem, com os valores de concentração e área (Tabela 21).

Tabela 22 - Concentrações de cloridrato de diltiazem e valores de área para a construção da curva analítica do método de doseamento em comprimidos e cápsulas por CLAE

Cloridrato de diltiazem ($\mu\text{g/mL}$)	Nível de concentração	n	Área (mAu.s)
15,60	50%	1	4408,248
		2	4275,724
		3	4408,532
23,41	75%	1	6770,568
		2	6590,026
		3	6685,397
31,21	100%	1*	8795,298
		2	9080,405
		3	9037,881
39,01	125%	1*	11947,894
		2	11657,959
		3*	11014,484
46,81	150%	1	13841,489
		2	13978,422
		3	13928,237

* Valores excluídos por se tratarem de outliers

Após a aplicação dos testes estatísticos, observou-se que os dados atendem a todas as premissas para o método dos mínimos quadrados ordinários (Tabela 22), podendo, portanto, serem tratados por esse método. De acordo com Souza & Junqueira (2005), pode-se excluir até 2/9 dos dados. Portanto, o número de outliers excluídos está de acordo com esse valor.

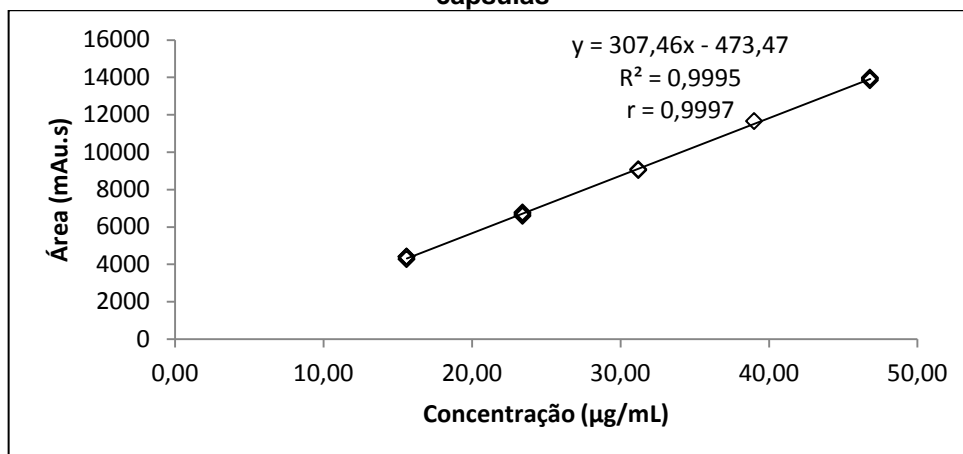
Tabela 23 - Conclusões dos testes estatísticos aplicados aos dados de regressão linear para verificar se os mesmos atendem às premissas para o métodos dos mínimos quadrados ordinários

Outliers Residuo Jacknife	Normalidade Ryan-Joiner	Homocedasticidade Levene modificado	Independência Durbin-Watson
Foram eliminados 3 outliers	Dados seguem a distribuição normal	Dados são homocedásticos	Dados são independentes

A legislação brasileira estabelece como critério mínimo de aceitação um coeficiente de correlação igual a 0,99 (BRASIL, 2003). Entretanto, o coeficiente de correlação é inadequado para indicar a falta de ajuste ao modelo linear, não devendo ser utilizado como teste de linearidade (THOMPSON; ELLISON; WOOD, 2002).

A curva analítica obtida a partir da aplicação do método dos mínimos quadrados ordinários aos dados da Tabela 21, bem como a equação da reta, o coeficiente de determinação (r^2) e o coeficiente de correlação (r) são apresentados na Figura 27.

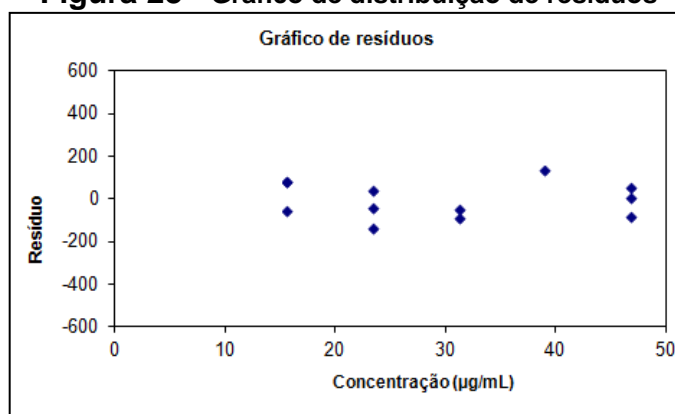
Figura 27 - Curva analítica para a determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas



Após a aplicação do teste de significância de regressão verificou-se que a regressão é estatisticamente significativa ($p < 0,01$).

O gráfico de distribuição de resíduos é apresentado na Figura 28. Analisando-o, verifica-se uma distribuição aleatória dos pontos e, portanto, ausência de qualquer tendência.

Figura 28 - Gráfico de distribuição de resíduos



O método demonstrou ser linear. Os resultados das análises estatísticas não demonstraram falta de ajuste ao modelo linear ($p > 0,05$). O coeficiente de

determinação foi próximo de 1, sendo o coeficiente de correlação maior que 0,99, como preconizado em legislação específica (BRASIL, 2003). A análise de variância demonstrou que a regressão é estatisticamente significativa a um nível de significância de 5%. Além disso, analisando-se o gráfico de resíduos, não se observou nenhuma tendência.

5.2.4 Exatidão, precisão intraensaio e interensaios

A recuperação e a precisão do método foram avaliadas para comprimidos e cápsulas em três níveis de concentração, 50%, 100% e 150% da concentração de trabalho (30 µg/mL). A porcentagem de recuperação foi determinada posteriormente. Foram preparadas 6 replicatas por dia para cada nível de concentração, em dois dias, com intervalo de uma semana.

5.2.4.1 Comprimidos

Para avaliar as quantidades de cloridrato de diltiazem recuperadas, determinou-se primeiramente a quantidade do fármaco presente na amostra correspondente a 50% da concentração de trabalho. As soluções amostra foram preparadas conforme descrito na Tabela 23, na Tabela 24 e na Tabela 25. Os valores de recuperação médios devem se situar entre 98,0% e 102,0% (GREEN, 1996; BRASIL, 2003).

Os resultados de recuperação obtidos para todos os níveis de concentração foram analisados quanto à presença de outliers pelo teste de Grubbs (GOMES & SOUZA, 2010).

Tabela 24 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de comprimidos no nível de concentração de 50% para a avaliação da exatidão do método analítico

n	Massa de DTZ da amostra (mg)	Massa de padrão adicionada (mg)	Massa recuperada (mg)	% de recuperação
1	15,25	---	15,95	104,63
2	15,09	---	15,28	101,28
3	15,18	---	15,21	100,15
4	15,11	---	14,80	97,94
5	15,34	---	15,16	98,78

Tabela 23 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de comprimidos no nível de concentração de 50% para a avaliação da exatidão do método analítico (continuação)

n	Massa de DTZ da amostra (mg)	Massa de padrão adicionada (mg)	Massa recuperada (mg)	% de recuperação
6	15,30	---	14,88	97,23
7	14,57	---	12,63	86,68*
8	14,52	---	13,71	94,41*
9	14,59	---	15,28	104,69
10	14,60	---	15,15	103,73
11	14,58	---	15,36	105,32
12	14,58	---	15,33	105,12
		MÉDIA		101,89

* Dados excluídos por se tratarem de outliers

Foram eliminados dois outliers para o nível de concentração de 50%, sendo compatível com o número máximo de outliers a serem excluídos (até 2/9 dos dados). Obteve-se recuperação média de 101,89%, portanto, entre 98,0% e 102,0%.

Tabela 25 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de comprimidos no nível de concentração de 100% para a avaliação da exatidão do método analítico

n	Massa de DTZ da amostra (mg)	Massa de padrão adicionada (mg)	Massa teórica (mg)	Massa recuperada (mg)	% de recuperação
1	15,11	15,09	30,20	29,81	98,70
2	15,13	15,29	30,42	29,83	98,06
3	15,22	15,16	30,38	29,74	97,87
4	15,11	15,10	30,21	29,22	96,72
5	15,20	15,92	31,12	29,80	95,76
6	15,11	16,35	31,46	30,14	95,82
7	14,84	15,26	30,10	31,19	103,60
8	14,56	15,19	29,75	30,88	103,83
9	14,90	15,49	30,39	32,02	105,35
10	14,72	15,54	30,26	31,28	103,36
11	14,55	15,81	30,36	32,55	107,23
12	14,59	15,88	30,47	31,29	102,70
		MÉDIA			100,75

Não foram observados outliers para o nível de concentração de 100%. Obteve-se recuperação média de 100,75%, portanto, entre 98,0% e 102,0%.

Tabela 26 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de comprimidos no nível de concentração de 150% para a avaliação da exatidão do método analítico

n	Massa de DTZ da amostra (mg)	Massa de padrão adicionada (mg)	Massa teórica (mg)	Massa recuperada (mg)	% de recuperação
1	15,41	30,06	45,47	44,21	97,22
2	15,11	30,06	45,17	44,36	98,20
3	15,23	30,90	46,13	44,97	97,50
4	15,20	30,16	45,36	43,26	95,38
5	15,50	30,39	45,89	42,75	93,15
6	15,32	30,64	45,96	42,85	93,24
7	14,82	31,05	45,87	44,15	96,24
8	14,53	30,27	44,80	45,85	102,35
9	14,67	30,85	45,52	46,64	102,46
10	14,94	30,26	45,20	46,58	103,07
11	14,60	30,45	45,05	46,15	102,43
12	14,76	30,79	45,55	46,96	103,08
		MÉDIA			98,69

Não foram observados outliers para o nível de concentração de 150%. Obteve-se recuperação média de 98,69%, portanto, entre 98,0% e 102,0%.

Primeiramente avaliaram-se as premissas para a realização de análise de variância com os dados obtidos, conforme Tabela 26. A precisão do método foi avaliada por análise de variância (Tabela 27).

Tabela 27 - Testes estatísticos para avaliação das premissas para análise de variância aplicada aos dados de recuperação de comprimidos

Nível de concentração	Normalidade Ryan-Joiner	Homocedasticidade Brown-Forsythe
50%	Dados seguem a distribuição normal	Dados são homocedásticos
100%	Dados seguem a distribuição normal	Dados são homocedásticos
150%	Dados seguem a distribuição normal	Dados são homocedásticos

Tabela 28 - Desvios padrão relativos estimados por ANOVA para a matriz de comprimidos

Nível	DPR (precisão intraensaio)	DPR (precisão interensaio)
50%	2,14	2,34
100%	1,46	1,57
150%	2,47	2,67

A precisão do método analítico foi confirmada, dado que os desvios padrão relativos foram próximos de 2% e inferiores a 5%, como exigido pela legislação vigente (GREEN, 1996; BRASIL, 2003).

5.2.4.2 Cápsulas

A porcentagem de recuperação de cloridrato de diltiazem em cápsulas foi avaliada utilizando-se cápsulas placebo, contendo apenas os excipientes da formulação. Adicionou-se cloridrato de diltiazem SQR ao pó das cápsulas placebo em três níveis de concentração, 50, 100 e 150%. As soluções amostra foram preparadas conforme descrito na Tabela 28, na Tabela 29 e na Tabela 30. Os valores de recuperação médios devem se situar entre 98,0% e 102,0% (GREEN, 1996).

Os resultados de recuperação obtidos para todos os níveis de concentração foram analisados quanto à presença de outliers pelo teste de Grubbs (Gomes e Souza, 2010).

Tabela 29 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de cápsulas no nível de concentração de 50% para a avaliação da exatidão do método analítico

n	Massa de padrão adicionada (mg)	Massa recuperada (mg)	% de recuperação
1	15,02	14,47	96,32
2	15,30	13,88	90,72*
3	15,00	14,23	94,85
4	15,12	14,87	98,35
5	15,04	14,50	96,39
6	15,03	14,67	97,64
7	15,05	14,70	97,65
8	15,01	14,82	98,74
9	15,06	15,39	102,19
10	15,03	15,13	100,65
11	15,02	14,98	99,70
12	15,04	14,78	98,29
	MÉDIA		98,25

* Dados excluídos por se tratarem de outliers

Foi eliminado um outlier para o nível de concentração de 50%, sendo compatível com o número máximo de outliers a serem excluídos (até 2/9 dos dados). Obteve-se recuperação média de 98,25% do cloridrato de diltiazem adicionado, situada, portanto, entre 98,0% e 102,0% (GREEN, 1996).

Tabela 30 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de cápsulas no nível de concentração de 100% para a avaliação da recuperação do método

n	Massa de padrão adicionada (mg)	Massa recuperada (mg)	% de recuperação
1	30,26	30,24	99,94
2	30,15	29,57	98,07
3	31,70	31,04	97,91
4	30,15	30,03	99,60
5	30,39	30,38	99,97
6	30,51	30,37	99,53
7	30,38	30,36	99,93
8*	30,54	29,24	95,76
9	30,59	30,52	99,76
10	30,17	30,15	99,93
11	30,17	30,04	99,56
12	30,25	30,69	101,46
	MÉDIA		99,60

* Dados excluídos por se tratarem de outliers

Foi eliminado um outlier para o nível de concentração de 100%, sendo compatível com o número máximo de outliers a serem excluídos (até 2/9 dos dados). Obteve-se recuperação média de 99,60% do cloridrato de diltiazem adicionado, situada, portanto, entre 98,0% e 102,0% (GREEN, 1996).

Tabela 31 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de cápsulas no nível de concentração de 150% para a avaliação da recuperação do método

n	Massa de padrão adicionada (mg)	Massa recuperada (mg)	% de recuperação
1	45,41	46,02	101,35
2	45,78	46,47	101,51
3	47,26	47,54	100,59
4	45,40	46,67	102,80
5	45,38	45,28	99,78
6	45,54	46,20	101,46

Tabela 30 - Porcentagens de recuperação de cloridrato de diltiazem para a matriz de cápsulas no nível de concentração de 150% para a avaliação da recuperação do método (continuação)

n	Massa de padrão adicionada (mg)	Massa recuperada (mg)	% de recuperação
7	45,98	46,14	100,36
8	45,44	45,40	99,90
9	45,03	45,03	100,00
10	46,28	46,32	100,08
11	46,08	46,78	101,52
12	46,38	46,62	100,53
	MÉDIA		100,82

Não foram observados outliers para o nível de concentração de 150%. Obteve-se recuperação média de 100,82% do cloridrato de diltiazem adicionado, situada, portanto, entre 98,0% e 102,0% (GREEN, 1996)..

Primeiramente avaliaram-se as premissas para a realização de análise de variância com os dados obtidos, conforme Tabela 31. A precisão do método foi avaliada por análise de variância (Tabela 32).

Tabela 32 - Testes estatísticos aplicados aos dados de recuperação de cápsulas

Nível de concentração	Normalidade	Homocedasticidade
	Ryan-Joiner	Brown-Forsythe
50%	Dados seguem a distribuição normal	Dados são homocedásticos
100%	Dados seguem a distribuição normal	Dados são homocedásticos
150%	Dados seguem a distribuição normal	Dados são homocedásticos

Tabela 33 - Desvios padrões relativos estimados por ANOVA para a matriz de cápsulas

Nível	DPR (repetibilidade)	DPR (precisão intermediária)
50%	1,49	2,43
100%	0,82	1,00
150%	0,82	0,96

A precisão do método analítico foi confirmada, já que foram obtidos valores de desvios padrão relativos próximos a 2% e inferiores a 5%, como exigido pela legislação vigente (GREEN, 1996; BRASIL, 2003).

5.2.5 Robustez

5.2.5.1 Comprimidos

A robustez foi avaliada pela variação dos seguintes parâmetros: temperatura da coluna, fluxo de fase móvel e proporção de solvente orgânico na fase móvel. Foram preparadas 6 soluções amostra de comprimidos. Duas soluções padrão foram preparadas e injetadas nas diferentes condições para a verificação da adequabilidade do sistema. Os teores de cloridrato de diltiazem obtidos com as variações dos parâmetros acima citados no teste de robustez para comprimidos são mostrados na Tabela 33.

Tabela 34 - Teores de cloridrato de diltiazem obtidos com as variações dos parâmetros no teste de robustez para comprimidos

Condição	Teor de cloridrato de diltiazem (%)						MÉDIA
	1	2	3	4	5	6	
Nominal	99,56	100,66	98,94	99,75	101,26	102,02	100,37
0,9 mL/min	101,56	102,84	100,55	100,55	101,62	102,60	101,62
1,1 mL/min	101,57	102,84	100,07	100,47	101,52	102,19	101,44
35 °C	101,50	103,53	100,53	101,02	102,08	102,34	101,83
54% B	102,00	103,12	100,15	100,78	101,93	102,52	101,75
58% B	101,57	102,86	100,71	101,42	102,22	102,86	101,94

A partir dos resultados de teor de cloridrato de diltiazem obtidos foi feita uma análise de variância (Tabela 34) com a finalidade de se verificar a influência de cada variação na resposta do método analítico.

Tabela 35 - Análise de variância (ANOVA) para a avaliação da robustez do método analítico para comprimidos

Fonte da variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Médias quadradas	F calculado	Valor-P	F crítico
Entre grupos	10,0263	5	2,0053	1,8673	0,1299	2,53355
Dentro dos grupos	32,2164	30	1,0739			
Total	42,2427	35				

A análise de variância demonstrou a ausência de diferenças estatisticamente significativas entre as variações selecionadas para o teste de robustez, uma vez que o valor de F calculado ($F = 1,8673$) é inferior ao valor de F crítico ($p > 0,05$).

5.2.5.2 Cápsulas

A robustez foi avaliada com a variação dos seguintes parâmetros: temperatura da coluna, fluxo de fase móvel e proporção de solvente orgânico na fase móvel. Foram preparadas 6 soluções amostra de cápsulas. Duas soluções padrão foram preparadas e injetadas nas diferentes condições para a verificação da adequabilidade do sistema. Os teores de cloridrato de diltiazem obtidos com as variações dos parâmetros acima citados no teste de robustez para cápsulas são mostrados na Tabela 35.

Tabela 36 - Teores de cloridrato de diltiazem obtidos com as variações dos parâmetros no teste de robustez para cápsulas

Condição	Teor de cloridrato de diltiazem (%)						MÉDIA
	1	2	3	4	5	6	
Nominal	99,62	99,47	100,69	101,19	99,69	98,80	99,91
0,9 mL/min	100,43	98,91	101,09	100,57	99,72	99,30	100,00
1,1 mL/min	100,40	99,41	101,24	101,83	100,35	99,64	100,48
35 °C	99,99	99,60	101,70	101,13	100,47	99,73	100,44
54% B	99,75	99,47	100,57	101,18	99,81	98,84	99,94
58% B	100,74	100,45	101,69	102,13	100,62	99,89	100,92

A partir dos resultados de teor de cloridrato de diltiazem obtidos foi feita uma análise de variância (Tabela 36) com a finalidade de se verificar a influência de cada variação na resposta do método analítico.

Tabela 37 - Análise de variância (ANOVA) para a avaliação da robustez do método analítico para cápsulas

Fonte da variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	Médias quadradas	F calculado	Valor-P	F crítico
Entre grupos	4,8209	5	0,9642	1,3237	0,2809	2,53355
Dentro dos grupos	21,8513	30	0,7284			
Total	26,6722	35				

A análise de variância demonstrou a ausência de diferenças estatisticamente significativas entre as variações selecionadas para o teste de robustez, uma vez que o valor de F calculado ($F = 1,3237$) é inferior ao valor de F crítico ($p > 0,05$).

5.2.6 Adequabilidade do sistema

A adequabilidade do sistema foi avaliada pelas médias dos valores de fator de assimetria, fator de retenção (k), número de pratos teóricos (N), médias e DPR das áreas dos picos de cloridrato de diltiazem obtidos com cinco injeções de uma das soluções padrão em todas as condições avaliadas no teste de robustez, como mostrado na Tabela 37.

Tabela 38 - Valores médios de área, fator de retenção, fator de assimetria e número de pratos teóricos relativos ao pico de cloridrato de diltiazem obtidos a partir da solução padrão durante a avaliação da robustez do método analítico. Em parênteses é apresentado o DPR dos valores de cinco injeções

Parâmetros	Condições					
	Nominal	0,9 mL/min	1,1 mL/min	35 °C	54% B	58% B
Área	7564,22 (0,22)	8372,53 (0,49)	6862,86 (0,30)	7643,89 (0,15)	7719,14 (0,22)	7674,22 (0,32)
k	4,789 (0,34)	5,082 (0,51)	4,540 (1,18)	4,135 (3,26)	6,147 (1,73)	3,712 (3,19)
N	5848 (0,56)	6253 (1,16)	5473 (2,62)	6160 (2,34)	6005 (4,06)	5666 (6,98)
Fator de assimetria	1,26 (0,30)	1,29 (0,33)	1,25 (0,34)	1,29 (0,46)	1,28 (0,15)	1,27 (0,37)

Observou-se que na condição de aumento de fluxo de fase móvel (1,1 mL/min), o valor de DPR do número de pratos teóricos, calculado em relação ao pico de cloridrato de diltiazem, foi superior a 2%. O mesmo foi observado para o valor de DPR relativo ao número de pratos teóricos nas demais variações testadas, sendo elas aumento de temperatura e diminuição e aumento da porcentagem de metanol. Observou-se que na condição de aumento da temperatura do forno de colunas, o valor de DPR do fator de retenção, calculado em relação ao pico de cloridrato de

diltiazem, foi superior a 2%. Situação semelhante foi observada para o valor de DPR relativo ao fator de retenção na condição de aumento da porcentagem de metanol.

Utilizando-se os valores da Tabela 37 e os valores de adequabilidade do sistema recomendados pelo FDA (UNITED STATES, 1994), foram sugeridos critérios para a adequabilidade do sistema nas análises de cloridrato de diltiazem para o método de CLAE desenvolvido (Tabela 38).

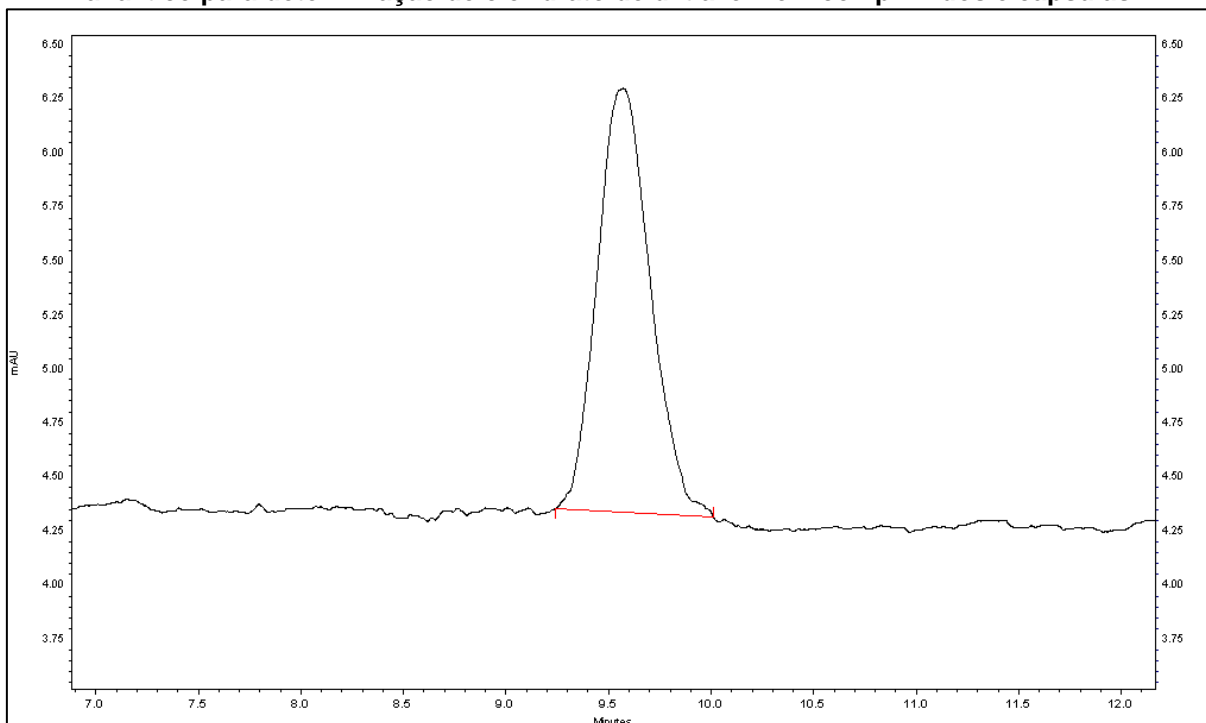
Tabela 39 - Parâmetros de adequabilidade recomendados pelo FDA (UNITED STATES, 1994) e sugeridos para o método desenvolvido

Parâmetro	Recomendação do FDA	Sugeridos para o método desenvolvido
Fator de retenção (k)	Geralmente $k > 2,0$; o pico deve estar bem resolvido do tempo morto e de outros picos.	Idem
Resolução (R)	$R > 2$ entre o pico de interesse e o interferente mais próximo	Idem
Fator de assimetria	---	$\leq 1,5$
Número de pratos teóricos (N)	Geralmente > 2000	Idem
Repetitividade	$DPR \leq 1\%$ para $n \geq 5$	Idem

5.2.7 Limite de detecção

O limite de detecção estimado pela curva analítica foi de $0,73 \mu\text{g/mL}$. Preparou-se uma solução na concentração calculada. Como a relação sinal/ruído foi superior a três, diluições foram feitas para determinar o limite de detecção real do método analítico. O limite de detecção real foi menor que $0,15 \mu\text{g/mL}$, já que se obteve relação sinal ruído superior a três após as diluições (Figura 29).

Figura 29 - Cromatograma obtido para a confirmação do limite de detecção do método analítico para determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas

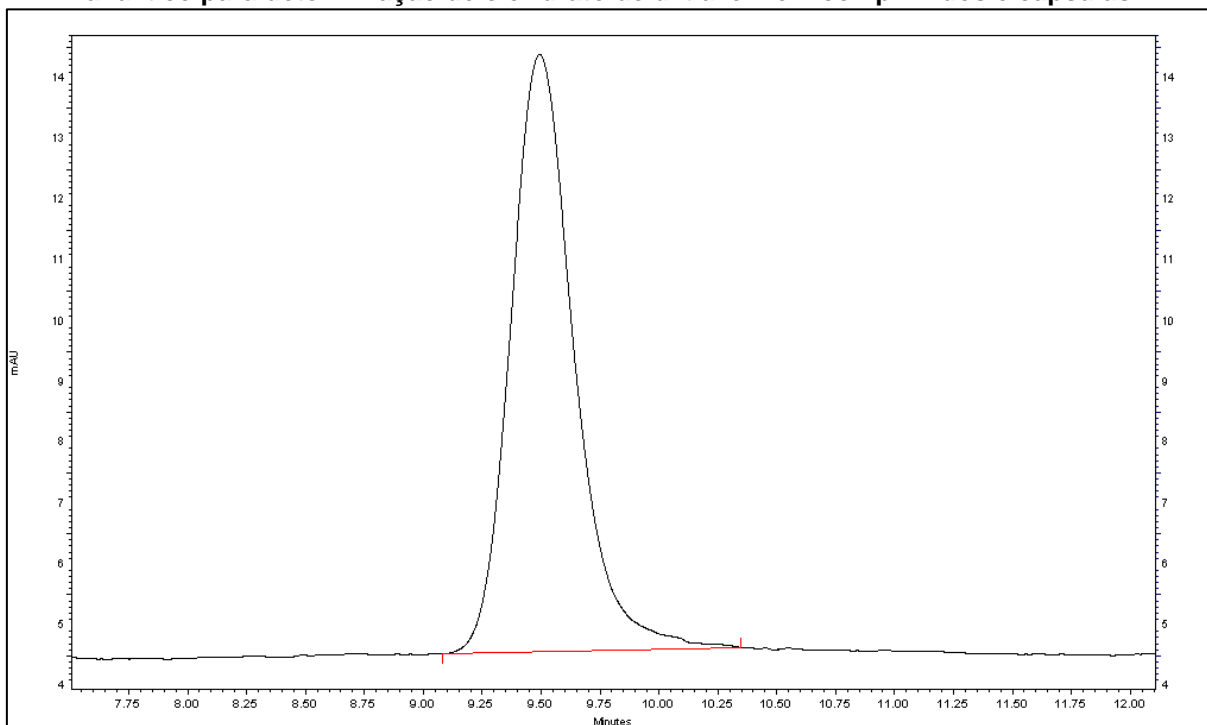


5.2.8 Limite de quantificação

O limite de quantificação estimado pela curva analítica foi de 2,22 $\mu\text{g/mL}$. Preparou-se uma solução na concentração calculada. Como a relação sinal/ruído foi superior a 10, diluições foram feitas para determinar o limite de quantificação real do método analítico. O limite de quantificação real foi inferior a 0,75 $\mu\text{g/mL}$, já que se obteve relação sinal ruído superior a dez após as diluições (Figura 30).

Ainda que na RE n. 899 de 2003, legislação específica que trata da validação de métodos analíticos, não seja recomendado o cálculo dos limites de detecção e quantificação para métodos analíticos desenvolvidos para a determinação de fármacos em matéria-prima e produtos farmacêuticos, tal exigência é feita para a validação de métodos analíticos utilizados em validação de limpeza (BRASIL, 2003). O cálculo dos limites de detecção e quantificação é necessário para métodos utilizados em validação de limpeza pelo fato dos resíduos estarem em nível de traços (AGALLOCO; CARLETON, 2008). Dessa forma, o presente método pode ser utilizado como ponto de partida para a validação de métodos utilizados em validação de limpeza.

Figura 30 - Cromatograma obtido para a confirmação do limite de quantificação do método analítico para determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas



6 CAPÍTULO III: COMPARAÇÃO DA QUALIDADE ENTRE OS MEDICAMENTOS CARDIZEM (MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA), CLORIDRATO DE DILTIAZEM (MEDICAMENTO GENÉRICO) E CÁPSULAS MAGISTRAIS CONTENDO CLORIDRATO DE DILTIAZEM.

6.1 Materiais e métodos

6.1.1 Materiais

6.1.1.1 Amostras

Comprimidos do medicamento de referência (Cardizem[®]), fabricados pelo laboratório Boehringer Ingelheim, contendo 30 mg de cloridrato de diltiazem (27,57 mg de diltiazem), lote A05752 com validade até 09/2015; comprimidos do medicamento genérico, fabricados pelo laboratório EMS, contendo 30 mg de cloridrato de diltiazem (27,57 mg de diltiazem), lote 566651 com validade até 08/2015; cápsulas magistrais, manipuladas por uma farmácia de Belo Horizonte, contendo 30 mg de cloridrato de diltiazem (27,57 mg de diltiazem) com validade até 17/05/2014; cloridrato de diltiazem matéria-prima fabricada por Piramal Healthcare Limited, lote DIL/M-00610 com validade até setembro/2014 e teor de 99,7%.

6.1.1.2 Reagentes

- Água ultrapura.
- Hastes metálicas verticais e garras.
- Papel de filtro quantitativo diâmetro 12,5 cm.
- Membrana de éster de celulose MILLIPORE com diâmetro de 47 mm e poros de 0,45 µm.
- Dispositivo para filtração.
- Solventes grau CLAE: metanol, ácido trifluoroacético.

6.1.1.3 Equipamentos

- Aparelho de ultrassom UNIQUE 1400.
- Balança analítica SARTORIUS com precisão de 0,01 mg modelo BP210D.
- Bomba de vácuo LABOPORT KNF N842.
- Coluna cromatográfica MERCK Purospher Star comprimento de 150 mm, diâmetro interno de 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm.
- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência THERMO Surveyor equipado com desgaseificador, bomba quaternária, forno de colunas, injetor automático e detector de arranjo de diodos (DAD) na região do ultravioleta e visível.
- Desintegrador NOVA ÉTICA.
- Dissolutor VARIAN VK7025.
- Durômetro NOVA ÉTICA 298.DGP.
- Espectrofotômetro SHIMADZU UV-1800.
- Friabilômetro NOVA ÉTICA.
- Pipetas automáticas calibradas BRAND TRANSFERPETTE.
- Potenciômetro METROHM 827 pH Lab.
- Sistema de purificação de água MILLIPORE DIRECT Q3.

6.1.2 Métodos

6.1.2.1 Determinação de peso

6.1.2.1.1 Comprimidos dos medicamentos referência e genérico

Pesou-se individualmente 20 comprimidos, determinou-se o peso médio e calculou-se os desvios individuais do peso das unidades em relação ao peso médio. Não mais que duas unidades podem apresentar desvio fora dos limites especificados ($\pm 7,5\%$ em relação ao peso médio) e nenhuma unidade pode apresentar desvio acima ou abaixo do dobro do limite especificado (FARMACOPEIA, 2010).

6.1.2.1.2 Cápsulas magistrais

Pesou-se individualmente 20 cápsulas cheias, removeu-se o conteúdo de cada uma, limpou-se adequadamente e pesou-se novamente. Determinou-se o peso do conteúdo de cada cápsula pela diferença entre o peso da cápsula cheia e da cápsula vazia. Posteriormente calculou-se o peso médio do conteúdo. Não mais que duas unidades podem apresentar desvio fora dos limites especificados ($\pm 10\%$ em relação ao peso médio) e nenhuma unidade pode apresentar desvio acima ou abaixo do dobro do limite especificado (FARMACOPEIA, 2010).

6.1.2.2 Dureza

O teste de dureza foi realizado em 10 unidades de comprimidos dos medicamentos referência e genérico utilizando-se um durômetro. O resultado do teste foi expresso como a média dos resultados, sendo considerado apenas informativo (FARMACOPEIA, 2010).

6.1.2.3 Friabilidade

O teste de friabilidade foi realizado utilizando-se 20 unidades de comprimidos dos medicamentos referência e genérico. Pesou-se, exatamente, 20 comprimidos, que foram introduzidos no friabilômetro. Utilizou-se a velocidade de 25 rotações por minuto e tempo de teste de quatro minutos. Após o fim do teste, os comprimidos foram retirados do equipamento, limpos suavemente com o auxílio de um pincel e pesados novamente. Determinou-se a porcentagem de perda de massa. A porcentagem de perda de massa deve ser inferior a 1,5% (FARMACOPEIA, 2010).

6.1.2.4 Desintegração

O teste de desintegração foi realizado com 6 unidades de cada medicamento. Utilizou-se como meio de desintegração água a 37 °C. O tempo máximo permitido pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição é de 30 minutos para comprimidos e de 45 minutos para cápsulas (FARMACOPEIA, 2010).

6.1.2.5 Uniformidade de doses unitárias

A uniformidade de doses unitárias foi determinada pelo método da uniformidade de conteúdo, já que o valor rotulado dos produtos é superior a 25 mg, mas a proporção do fármaco nas formas farmacêuticas é inferior a 25% do peso médio das unidades. Analisou-se, individualmente, 10 unidades conforme método analítico desenvolvido e validado. Calculou-se posteriormente o valor de aceitação (VA), que deve ser inferior a 15,0 (FARMACOPEIA, 2010).

Os comprimidos foram pesados individualmente. Posteriormente, trituraram-se os comprimidos separadamente. Alíquotas dos pós foram pesadas e transferidas separadamente para balões volumétricos de 100 mL. Adicionaram-se cerca de 50 mL de metanol e levaram-se os balões para banho de ultrassom por 10 minutos. Completou-se o volume dos balões com água e homogeneizou-se. As soluções foram filtradas, descartando-se os primeiros 10 mL do filtrado. Transferiu-se 5 mL do filtrado para balões volumétricos de 50 mL, completou-se o volume com água e homogeneizou-se. Calculou-se a dose de cloridrato de diltiazem em cada comprimido levando-se em consideração a relação entre a massa transferida e a massa total do comprimido.

As cápsulas foram pesadas individualmente. Os conteúdos das cápsulas foram removidos e as cápsulas com resíduo de pó foram pesadas e posteriormente limpas utilizando-se um pincel. As cápsulas limpas foram pesadas. Os conteúdos das cápsulas foram transferidos separadamente para balões volumétricos de 100 mL. Foram adicionados cerca de 50 mL de metanol e os balões foram levados para banho de ultrassom por 10 minutos. Completou-se o volume dos balões com água e homogeneizou-se. As soluções foram filtradas, descartando-se os primeiros 10 mL do filtrado. Transferiram-se 5 mL do filtrado para balões volumétricos de 50 mL, completou-se o volume com água e homogeneizou-se. Calculou-se a dose de cloridrato de diltiazem em cada cápsula levando-se em consideração a relação entre a massa transferida e a massa total do seu conteúdo.

6.1.2.6 Análise das amostras do teste de dissolução por Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência (CLAE)

Com a finalidade de comparar os medicamentos referência, genérico e cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem utilizou-se o teste de dissolução para cloridrato de diltiazem comprimidos da Farmacopeia Americana 35ª edição (THE UNITED, 2012).

Foram coletadas amostras das seis cubas de dissolução após 210 minutos do início do teste de dissolução dos medicamentos referência, genérico e cápsulas magistrais. As amostras foram filtradas com filtros de seringa de PVDF, tamanho de poro de 0,45 µm e transferidas para *vials*. Cada solução foi injetada uma vez no cromatógrafo nas condições cromatográficas do método analítico indicador de estabilidade desenvolvido e validado anteriormente.

6.1.2.7 Dissolução

O teste foi realizado com água como meio de dissolução, volume de 900 mL, velocidade de 75 rotações por minuto, temperatura de 37 °C e sem reposição de meio de dissolução. Foram separadas 24 unidades de cada medicamento. Utilizaram-se, inicialmente, 6 unidades de cada medicamento. Coletaram-se amostras de 10 mL nos tempos de coleta de 30 e 180 minutos. As amostras foram filtradas através de filtros de seringa de PVDF, tamanho de poro de 0,45 µm.

As amostras coletadas em 180 minutos foram diluídas para o teste de dissolução dos medicamentos referência e genérico. Para as cápsulas, as amostras coletadas nos tempos de coleta de 30 e 180 minutos foram diluídas. Para tal, pipetou-se 4 mL da amostra, transferiu-se para balão volumétrico de 25 mL, completou-se o volume com água e homogeneizou-se.

As concentrações das amostras foram determinadas por espectrofotometria na região do ultravioleta, em 237 nm e corrigidas pelos volumes e concentrações das amostras anteriormente coletadas. Para isso, preparou-se uma curva analítica para determinar as concentrações de cloridrato de diltiazem nas amostras coletadas. Foram preparadas 6 soluções padrão a partir da solução padrão estoque (Tabela 39).

Tabela 40 - Construção da curva analítica para a determinação da porcentagem de cedência de cloridrato de diltiazem a partir das formas farmacêuticas comprimido e cápsula nos testes de perfil de dissolução e dissolução

Volume de solução padrão estoque (mL)	Volume final (mL)	Concentração final ($\mu\text{g/mL}$)
1,00	50,00	2,0
2,00	50,00	4,0
3,00	50,00	6,0
4,00	50,00	8,0
5,00	50,00	10,0
3,00	25,00	12,0

A solução padrão estoque foi preparada pesando-se, exatamente, cerca de 10 mg de cloridrato de diltiazem para balão volumétrico de 100 mL, ao qual se adicionou aproximadamente 50 mL de água. O balão foi levado para banho de ultrassom por 10 minutos, o volume completado e a solução posteriormente homogeneizada.

O teste de dissolução para cápsulas foi realizado nas mesmas condições, utilizando-se âncoras (Figura 31).

Figura 31 - Modelo de âncora utilizado para os testes de perfil de dissolução e dissolução das cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem



A porcentagem de cedência deve ser inferior a 60% (Q) do valor rotulado em 30 minutos e superior a 75% (Q) da quantidade rotulada em três horas (THE UNITED, 2012). Os critérios para aprovação de comprimidos de cloridrato de diltiazem no teste de dissolução são apresentados na Tabela 40.

Tabela 40 - Critérios para aprovação de comprimidos de cloridrato de diltiazem no teste de dissolução (THE UNITED, 2012)

30 minutos		
Estágio	Amostragem	Critério de aceitação
E1	6	Nenhuma unidade apresenta resultado maior que Q

Tabela 40 - Critérios para aprovação de comprimidos de cloridrato de diltiazem no teste de dissolução (THE UNITED, 2012) (continuação)

30 minutos		
Estágio	Amostragem	Critério de aceitação
E2	6	O valor médio é igual ou menor que Q
E3	12	O valor médio é igual ou menor que Q e nenhuma unidade é maior que Q + 10%
3 horas		
Estágio	Amostragem	Critério de aceitação
E1	6	Todas as unidades apresentam resultado maior que Q + 5%
E2	6	O valor médio de 12 unidades é igual ou maior que Q e nenhuma unidade apresenta resultado inferior a Q - 15%
E3	12	O valor médio de 24 unidades é igual ou maior que Q, não mais que duas unidades apresentam resultados inferiores a Q - 15% e nenhuma unidade apresenta resultado inferior a Q - 25%

6.1.2.8 Perfil de dissolução

Os medicamentos referência, genérico e cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem foram submetidos ao teste de perfil de dissolução com a finalidade de comparação da liberação do princípio ativo ao longo do tempo pelas respectivas formulações. Foram utilizadas 12 unidades de cada medicamento. Coletaram-se amostras de 10 mL nos tempos de coleta 15, 30, 60, 120, 180 e 210 minutos. As amostras foram filtradas através de filtros de seringa de PVDF, tamanho de poro de 0,45 µm. O teste foi realizado com água como meio de dissolução, volume de 900 mL, velocidade de 75 rotações por minuto, temperatura de 37 °C e sem reposição de meio de dissolução. As concentrações das amostras foram determinadas por espectrofotometria na região do ultravioleta, em 237 nm, e corrigidas pelos volumes e concentrações das amostras anteriormente coletadas.

Preparou-se uma curva analítica para determinar as concentrações de cloridrato de diltiazem nas amostras coletadas. Foram preparadas 6 soluções padrão a partir de uma solução padrão estoque. As soluções foram preparadas como descrito na seção 6.1.2.7 - Dissolução.

A comparação dos perfis de dissolução foi feita através do modelo independente simples, calculando-se o fator de semelhança (F2) e o fator de diferença (F1), conforme as equações a seguir,

$$F2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\}$$

onde n é o número de tempos de coleta considerados, R_t é o valor de porcentagem dissolvida no tempo t, obtido com o medicamento de referência ou comparador e T_t é o valor de porcentagem dissolvida do medicamento teste, no tempo t.

$$F1 = \frac{\sum_{t=1}^n |R_t - T_t|}{\sum_{t=1}^n R_t} \times 100$$

Os termos da equação para o cálculo de F1 são os mesmos descritos anteriormente. O valor do fator de semelhança (F2) deve estar entre 50 e 100 (BRASIL, 2010; UNITED STATES, 1997). O valor do fator de diferença deve ser inferior a 15 (UNITED STATES, 1997).

6.1.2.8.1 Preparo das amostras dos medicamentos referência e genérico

As amostras de 15 e 30 minutos não foram diluídas. As amostras dos tempos de coleta de 60, 120, 180 e 210 minutos foram diluídas. Para tal, pipetou-se 4 mL das amostras e transferiu-se para balões volumétricos de 25 mL, completou-se o volume com água e homogeneizou-se.

6.1.2.8.2 Preparo das amostras das cápsulas magistrais

Utilizaram-se âncoras para manter as cápsulas no fundo das cubas de dissolução (Figura 32). As amostras de todos os tempos de coleta foram diluídas. Para tal, pipetou-se 4 mL das amostras e transferiu-se para balões volumétricos de 25 mL, completou-se o volume com água e homogeneizou-se.

6.1.2.9 Doseamento

6.1.2.9.1 Comprimidos dos medicamentos referência e genérico

Foram preparadas três soluções amostra dos comprimidos dos medicamentos referência e genérico.

As soluções amostra para comprimidos foram preparadas como descrito a seguir: determinou-se o peso médio de 20 comprimidos. Os comprimidos foram posteriormente triturados. Quantidade de pó equivalente a 30 mg de cloridrato de diltiazem foi transferida para balões volumétricos de 100 mL. Adicionou-se cerca de 50 mL de metanol e levou-se os balões para ultrassom por 10 minutos. Completou-se o volume dos balões com água e homogeneizou-se. As soluções foram filtradas, descartando-se os primeiros 10 mL do filtrado. Foram transferidos 5 mL do filtrado para balões volumétricos de 50 mL, o volume foi completado com água e a solução homogeneizada. As soluções, na concentração teórica de 30 µg/mL, foram transferidas para *vials* e injetadas três vezes no cromatógrafo.

As concentrações de cloridrato de diltiazem nas amostras foram determinadas através da substituição dos parâmetros da equação gerada pela construção de uma curva analítica a partir de três soluções padrão.

As soluções padrão foram preparadas pela diluição de uma solução padrão estoque, como descrito na Tabela 41.

Tabela 41 - Construção da curva analítica para determinação do teor de cloridrato de diltiazem nas formas farmacêuticas comprimido e cápsula

Nível	Volume de solução padrão estoque (mL)	Volume final (mL)	Concentração final (µg/mL)
50%	5,00	50,00	15,0
100%	10,00	50,00	30,0
150%	15,00	50,00	45,0

A solução padrão estoque foi preparada como descrito a seguir: pesou-se, exatamente, cerca de 15 mg de cloridrato de diltiazem SQR e transferiu-se para

balão volumétrico de 100 mL. Adicionou-se cerca de 50 mL de metanol e levou-se o balão para banho de ultrassom por 10 minutos. Completou-se o volume com água e homogeneizou-se.

O teor de cloridrato de diltiazem nos comprimidos deve estar entre 90 e 110% do valor rotulado (THE UNITED, 2012).

6.1.2.9.2 Cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem

Foram preparadas três soluções amostra das cápsulas magistrais. Cada solução foi injetada três vezes.

As soluções amostra foram preparadas como descrito a seguir: determinou-se o peso médio de conteúdo de 20 cápsulas. Os conteúdos das cápsulas foram posteriormente homogeneizados. Transferiu-se quantidade de pó equivalente a 30 mg de cloridrato de diltiazem para balões volumétricos de 100 mL. Adicionou-se cerca de 50 mL de metanol e levou-se os balões para ultrassom por 10 minutos. Completou-se o volume dos balões com água e homogeneizou-se. As soluções foram filtradas, descartando-se os primeiros 10 mL do filtrado. Transferiu-se 5 mL do filtrado para balões volumétricos de 50 mL, completou-se o volume com água e homogeneizou-se. As soluções, na concentração teórica de 30 µg/mL, foram transferidas para *vials* e injetadas três vezes no cromatógrafo.

As concentrações de cloridrato de diltiazem nas amostras foram determinadas através da substituição dos parâmetros da equação gerada pela construção de uma curva analítica a partir de três soluções padrão.

As soluções padrão foram preparadas como descrito na seção anterior, 6.1.2.9.1 - Comprimidos dos medicamentos referência e genérico.

Não existe especificação para os limites de teor de cloridrato de diltiazem na forma farmacêutica cápsula. Como a qualidade de cápsulas magistrais e comprimidos está sendo comparada, considerou-se os mesmos limites de teor especificados para comprimidos, entre 90 e 110% do valor rotulado.

6.2 Resultados e discussão

6.2.1 Determinação de peso

6.2.1.1 Comprimidos dos medicamentos referência e genérico

O medicamento referência (cardizem) apresentou peso médio de 186,77 mg. As porcentagens de desvio em relação à média variaram de -1,51% a 3,03%, inferiores ao limite de $\pm 7,5\%$ especificado pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição (FARMACOPEIA, 2010).

O medicamento genérico (EMS) apresentou peso médio de 145,45 mg. As porcentagens de desvio em relação à média variaram de -2,51% a 2,95%, inferiores ao limite de $\pm 7,5\%$ especificado pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição (FARMACOPEIA, 2010).

6.2.1.2 Cápsulas magistrais

As cápsulas magistrais apresentaram peso médio de conteúdo de 175,60 mg. As porcentagens de desvio em relação à média variaram de -5,08% a 4,76%, inferiores ao limite de $\pm 10\%$ especificado pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição (FARMACOPEIA, 2010).

6.2.2 Dureza

O teste de dureza foi realizado em 10 unidades de comprimidos dos medicamentos referência e genérico. O medicamento referência apresentou dureza média de 58,5 N e DPR de 6,6%. O medicamento genérico apresentou dureza média de 57,2 N e DPR de 5,9%. O resultado do teste de dureza é informativo (FARMACOPEIA, 2010). A dureza de um comprimido é diretamente proporcional à força de compressão aplicada durante a produção, ou seja, quanto maior a força de compressão aplicada, maior a dureza do comprimido. Os comprimidos devem ser duros o suficiente para resistir à ruptura durante o manuseio e frágeis o bastante para se desintegrarem após a ingestão (JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2007).

6.2.3 Friabilidade

Os comprimidos dos medicamentos referência e genérico foram submetidos ao teste de friabilidade. A porcentagem de perda de massa foi de 0,22% para o medicamento referência e de 0,13% para o medicamento genérico. Tais valores estão dentro da especificação, inferiores a 1,5% (FARMACOPEIA, 2010). O teste de friabilidade determina a tendência à erosão mecânica causada pelo atrito ao qual o comprimido está sujeito durante o manuseio, acondicionamento e transporte (JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2007).

6.2.4 Desintegração

O teste de desintegração foi realizado de acordo com os procedimentos descritos na Farmacopeia Brasileira 5ª edição, com 6 unidades de cada medicamento. Os comprimidos dos medicamentos referência e genérico não se desintegraram em 30 minutos, ao passo que as cápsulas magistrais se desintegraram em 5 minutos, tempo esse inferior ao tempo limite especificado pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição, de 45 minutos para cápsulas duras.

O teste de desintegração não se aplica a comprimidos de liberação controlada ou prolongada (FARMACOPEIA, 2010). Como será discutido posteriormente, acredita-se que os comprimidos de cloridrato de diltiazem apresentam liberação modificada, o que é reforçado por dados da literatura e pelos perfis de dissolução obtidos neste trabalho. Por isso, os comprimidos de cloridrato de diltiazem não foram considerados reprovados no teste de desintegração.

6.2.5 Uniformidade de doses unitárias

As três formulações contendo cloridrato de diltiazem, medicamento referência (cardizem), medicamento genérico e cápsulas magistrais, apresentaram uniformidade das doses entre unidades do mesmo lote (Tabela 42, Tabela 43 e Tabela 44, respectivamente). Os valores de aceitação obtidos para o medicamento referência, medicamento genérico e para as cápsulas magistrais foram inferiores a 15,0, conforme estabelecido pelas Farmacopeias Americana e Brasileira (THE

UNITED, 2012; FARMACOPEIA, 2010). Dessa forma, as três formulações foram consideradas adequadas no teste de uniformidade de doses unitárias.

Tabela 42 - Uniformidade de conteúdo para comprimidos do medicamento referência (cardizem) contendo cloridrato de diltiazem

n	Massa do comprimido (mg)	Concentração teórica (µg/mL)	Concentração real (µg/mL)	Teor (%)
1	187,67	30,14	29,84	99,00
2	183,73	29,51	28,71	97,31
3	185,74	29,83	28,80	96,56
4	184,23	29,59	28,92	97,76
5	189,56	30,44	29,64	97,38
6	185,90	29,86	28,75	96,31
7	187,98	30,19	29,21	96,75
8	183,70	29,50	28,77	97,50
9	189,89	30,50	29,51	96,77
10	190,64	30,62	29,62	96,75
MÉDIA				97,21
DESVIO PADRÃO				0,78
VALOR DE ACEITAÇÃO (VA)				3,16

Tabela 43 - Uniformidade de conteúdo para comprimidos do medicamento genérico contendo cloridrato de diltiazem

n	Massa do comprimido (mg)	Concentração teórica (µg/mL)	Concentração real (µg/mL)	Teor (%)
1	144,25	29,69	28,11	94,69
2	144,03	29,64	27,78	93,73
3	142,93	29,41	27,44	93,30
4	142,79	29,38	27,13	92,34
5	144,91	29,82	28,30	94,91
6	144,90	29,82	27,62	92,64
7	145,54	29,95	27,47	91,72
8	146,15	30,08	27,70	92,08
9	149,27	30,72	28,08	91,41
10	143,99	29,63	27,83	93,93
MÉDIA				93,07
DESVIO PADRÃO				1,23
VALOR DE ACEITAÇÃO (VA)				8,37

Tabela 44 - Uniformidade de conteúdo para cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem

n	Massa do conteúdo da cápsula (mg)	Concentração teórica (µg/mL)	Concentração real (µg/mL)	Teor (%)
1	174,53	29,82	30,14	101,71
2	172,93	39,61	30,58	104,00
3	178,73	40,58	30,46	100,30
4	181,58	40,87	31,87	103,13
5	173,13	39,65	29,81	101,38
6	177,72	40,32	31,06	103,08
7	170,79	39,25	30,35	104,70
8	176,91	40,20	30,96	103,19
9	176,48	39,93	31,26	104,23
10	174,94	39,98	30,83	103,60
		MÉDIA		102,93
		DESVIO PADRÃO		1,39
		VALOR DE ACEITAÇÃO (VA)		4,76

A uniformidade de doses nas cápsulas duras depende de quatro fatores, sendo eles a escolha dos invólucros utilizados, o método de mistura dos pós, o método de encapsulação empregado e as características do pó a ser encapsulado. Essas etapas são as responsáveis por grande parte dos desvios da qualidade no processo de manipulação de cápsulas duras (PINHEIRO, 2008).

Estudo realizado para avaliar a qualidade de cápsulas magistrais de sinvastatina utilizou 18 amostras de cápsulas de sinvastatina de 40 mg de farmácias magistrais de São Paulo, Guarulhos, São Bernardo do Campo e Campinas. Das farmácias avaliadas, apenas três apresentaram resultados satisfatórios no teste de uniformidade de doses unitárias (MARKMAN; ROSA; KOSCHTSCHAK, 2010).

Estudo realizado para avaliar a qualidade de cápsulas magistrais de diazepam em farmácias de Passo Fundo/RS utilizou amostras de quatro farmácias. Dessas, duas farmácias apresentaram resultados insatisfatórios no teste de uniformidade de doses unitárias (MENEHINI & ADAMS, 2007).

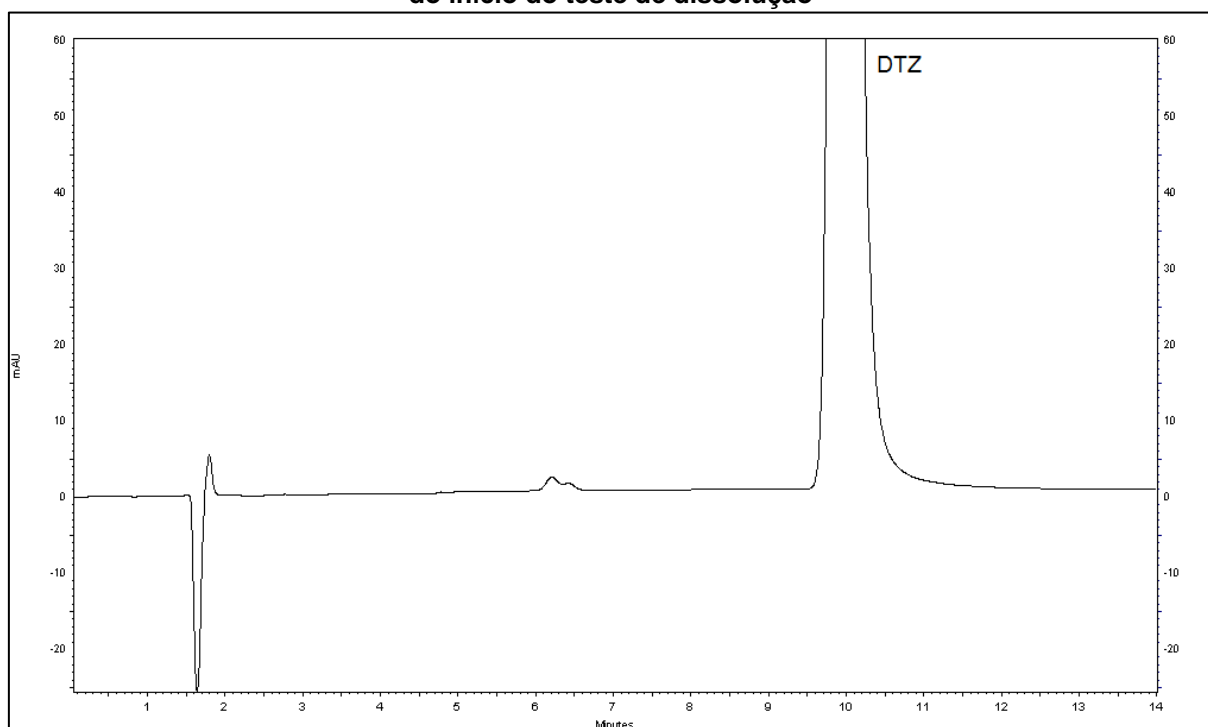
Embora a uniformidade de doses unitárias seja um problema recorrente na farmácia magistral, a amostra de cápsulas de cloridrato de diltiazem testada apresentou

resultados satisfatórios nesse teste, demonstrando que o processo de manipulação utilizado é capaz de garantir a quantidade de fármaco dentro de cada unidade posológica.

6.2.6 Análise das amostras do teste de dissolução por Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência (CLAE)

O cromatograma da amostra coletada após 210 minutos do início do teste de dissolução para o medicamento referência é apresentado na Figura 32.

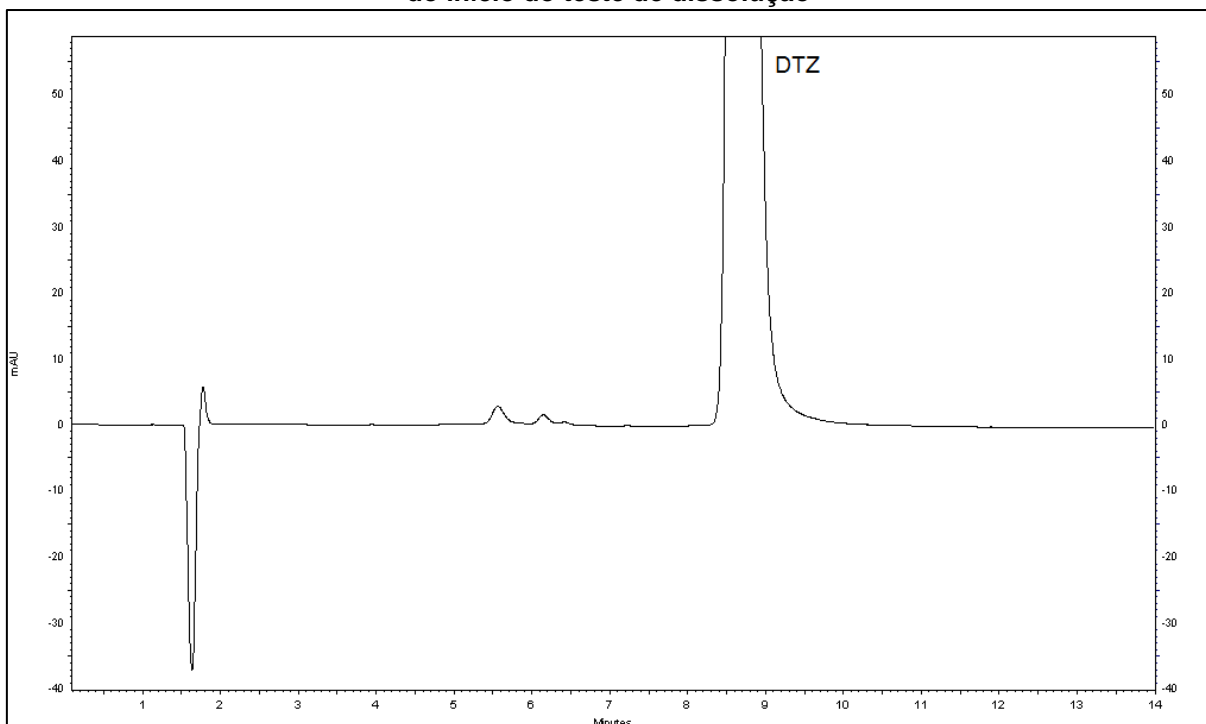
Figura 32 - Cromatograma (zoom) da amostra do medicamento referência após 210 minutos do início do teste de dissolução



Analisando-se o cromatograma, pode-se observar que o cloridrato de diltiazem liberado a partir dos comprimidos do medicamento referência não sofre degradação significativa nas condições empregadas nos testes de dissolução e perfil de dissolução, sendo a área dos produtos de degradação equivalente a 0,34% da área do pico principal. Dessa forma, pode-se utilizar o método por espectrofotometria no ultravioleta para determinar a porcentagem de cedência no teste de dissolução. Além disso, é possível constatar que o método analítico desenvolvido e validado é capaz de diferenciar o fármaco dos seus produtos de degradação.

O cromatograma da amostra coletada após 210 minutos do início do teste de dissolução para o medicamento genérico é apresentado na Figura 33.

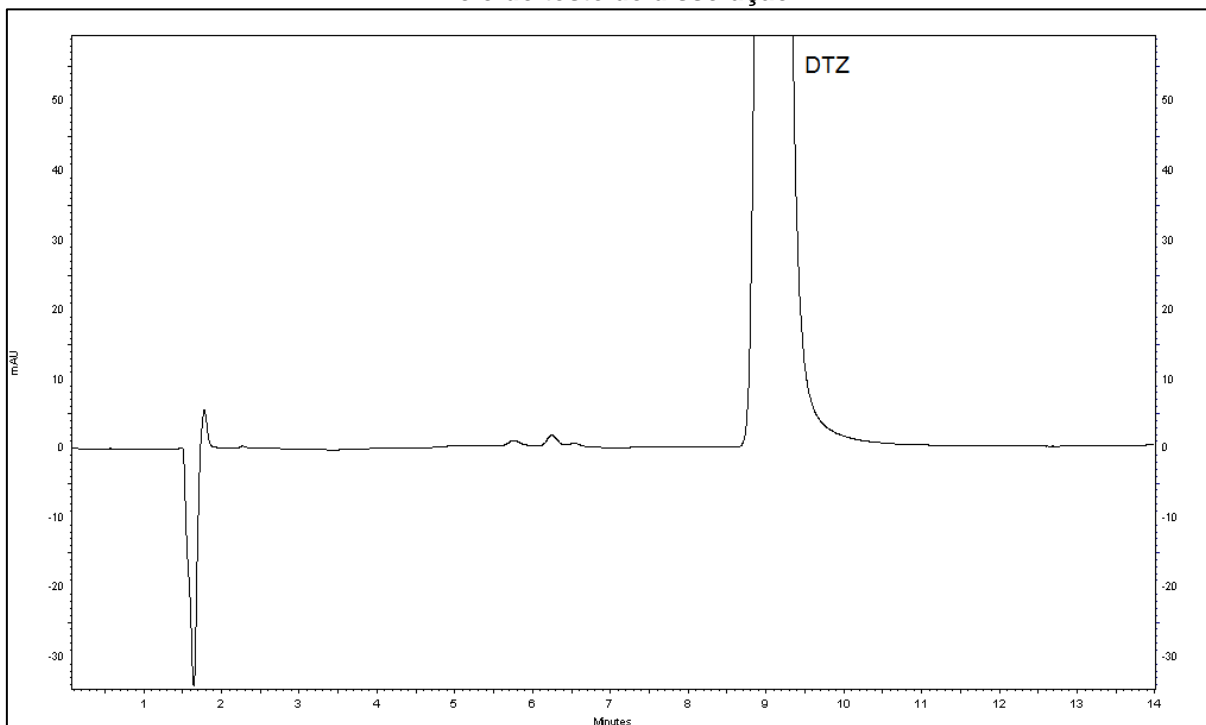
Figura 33 - Cromatograma (zoom) da amostra do medicamento genérico após 210 minutos do início do teste de dissolução



Pela análise do cromatograma, pode-se observar que o cloridrato de diltiazem liberado a partir dos comprimidos do medicamento genérico não sofre degradação significativa nas condições empregadas nos testes de dissolução e perfil de dissolução, sendo a área dos produtos de degradação equivalente a 0,47% da área do pico principal.

O cromatograma da amostra coletada após 210 minutos do início do teste de dissolução para as cápsulas magistrais é apresentado na Figura 34.

Figura 34 - Cromatograma (zoom) da amostra das cápsulas magistrais após 210 minutos do início do teste de dissolução



Analisando-se o cromatograma, pode-se observar que o cloridrato de diltiazem liberado a partir das cápsulas magistrais não sofre degradação significativa nas condições empregadas nos testes de dissolução e perfil de dissolução, mesmo sendo rapidamente liberado a partir da forma farmacêutica. A área dos produtos de degradação foi equivalente a 0,29% da área do pico principal. Esperava-se que, por apresentarem rápida liberação do princípio ativo no meio de dissolução e, portanto, maior permanência no meio de dissolução, houvesse uma degradação significativa do diltiazem, o que não foi observado. Dessa forma, a determinação da porcentagem de cedência a partir das cápsulas magistrais pode ser feita por espectrofotometria na região do ultravioleta. Isso é particularmente importante porque os produtos de degradação apresentaram espectros semelhantes ao do diltiazem, podendo causar interferência nas leituras.

6.2.7 Dissolução

São apresentados na Tabela 45 os resultados de dissolução para o medicamento referência.

Tabela 44 - Porcentagens de cedência de cloridrato de diltiazem obtidas para o medicamento referência no teste de dissolução

Unidade	30 minutos (%)	3 horas (%)	Unidade	30 minutos (%)	3 horas (%)
1	32,96	89,37	7	35,14	81,99
2	28,17	81,94	8	27,56	74,69
3	28,69	86,45	9	29,93	79,02
4	27,60	82,55	10	28,34	74,90
5	29,51	79,67	11	28,40	72,02
6	27,79	84,78	12	29,12	73,07

Inicialmente, foram testadas 6 unidades. Porém, nem todas as 6 unidades apresentaram dissolução igual a Q + 5% para o ponto de coleta de três horas. Dessa forma, foi necessário testar mais 6 unidades. A média de dissolução das 12 unidades testadas foi igual ou superior a Q e nenhuma unidade apresentou resultado inferior a Q - 15% para o ponto de coleta de três horas (média de 80,04% de cedência). Todas as unidades apresentaram dissolução inferior a Q para o ponto de coleta de 30 minutos (média de 29,43% de cedência). Sendo assim, o medicamento referência foi aprovado no teste de dissolução.

São apresentados na Tabela 46 os resultados de dissolução para o medicamento genérico.

Tabela 45 - Porcentagens de cedência de cloridrato de diltiazem obtidas para o medicamento genérico no teste de dissolução

Unidade	30 minutos (%)	3 horas (%)
1	35,06	87,20
2	41,42	88,36
3	38,52	90,68
4	35,56	87,98
5	34,16	85,44
6	34,83	86,34
MÉDIA	36,59	87,67

As 6 unidades testadas inicialmente apresentaram porcentagem de cedência superiores a Q + 5% para o ponto de coleta de três horas (média de 87,67% de cedência). Nenhuma unidade testada apresentou resultado maior que Q para o ponto de coleta de 30 minutos (média de 36,59% de cedência). Dessa forma, o medicamento genérico foi aprovado no teste de dissolução.

São apresentados na Tabela 47 os resultados de dissolução para as cápsulas magistrais.

Tabela 46 - Porcentagens de cedência de cloridrato de diltiazem obtidas para as cápsulas magistrais no teste de dissolução

Unidade	30 minutos (%)	3 horas (%)
1	99,95	98,33
2	98,09	98,31
3	105,59	104,43
4	99,84	98,06
5	99,81	99,87
6	99,69	99,11
MÉDIA	100,50	99,69

As 6 unidades testadas apresentaram porcentagem de cedência superiores a Q + 5% para o ponto de coleta de três horas (média de 99,69% de cedência). Todas as unidades testadas apresentaram resultado maior que Q para o ponto de coleta de 30 minutos (média de 100,50% de cedência). Os resultados de dissolução condizem com os resultados de desintegração para as cápsulas magistrais. No teste de desintegração, as cápsulas liberaram rapidamente o seu conteúdo e, no teste de dissolução, demonstrou-se que o conteúdo das cápsulas se dissolve rapidamente no meio de dissolução. Dessa forma, de acordo com os critérios de aceitação para o teste de dissolução, as cápsulas magistrais seriam reprovadas nesse teste. No entanto, o teste de dissolução utilizado, bem como os critérios de aceitação, são aplicáveis à forma farmacêutica comprimidos. Discussão mais detalhada a respeito da dissolução das cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem será realizada a seguir, na seção 6.1.3.7 - Perfil de dissolução.

6.2.8 Perfil de dissolução

Para a construção do perfil de dissolução utilizou-se 12 amostras de cada medicamento.

As porcentagens de cedência foram determinadas para os medicamentos referência, genérico e cápsulas magistrais (Tabela 48, Tabela 49 e Tabela 50, respectivamente).

Tabela 47 - Porcentagens de cedência para a construção do perfil de dissolução do medicamento referência

Amostra / Tempo (minutos)	% cedência					
	15	30	60	120	180	210
1	19,54	28,26	49,11	67,34	83,04	89,92

Tabela 48 - Porcentagens de cedência para a construção do perfil de dissolução do medicamento referência (continuação)

Amostra / Tempo (minutos)	% cedência					
	15	30	60	120	180	210
2	19,97	28,47	51,47	65,71	84,58	90,24
3	19,99	28,19	50,17	65,68	84,43	91,87
4	22,36	31,05	54,75	70,92	90,15	94,29
5	20,91	30,43	51,93	71,75	91,14	97,20
6	20,55	28,53	55,88	75,16	93,61	96,32
7	19,65	27,58	42,73	60,79	80,01	83,89
8	20,02	28,82	44,13	65,01	80,13	86,71
9	19,35	27,66	42,40	59,39	76,19	83,27
10	19,30	27,83	42,27	59,43	76,35	83,70
11	19,08	27,43	42,48	60,72	76,47	81,75
12	18,81	27,21	41,71	61,20	77,20	85,29
MÉDIA	19,96	28,45	47,42	65,26	82,78	88,71
DESVIO PADRÃO	0,96	1,18	5,35	5,24	6,16	5,37
DPR	4,82	4,14	11,27	8,04	7,45	6,05

Tabela 49 - Porcentagens de cedência para a construção do perfil de dissolução do medicamento genérico

Amostra / Tempo (minutos)	% cedência					
	15	30	60	120	180	210
1	27,58	37,07	50,74	68,85	88,64	91,42
2	27,39	37,60	51,40	66,74	80,44	86,21
3	27,63	37,80	52,54	71,83	88,95	92,03
4	25,71	36,00	52,59	72,86	85,91	89,56
5	24,15	34,89	49,61	70,52	84,02	87,30
6	25,12	35,30	49,73	69,36	83,49	87,67
7	25,93	35,72	59,61	83,10	91,96	94,90
8	26,33	35,61	57,53	72,21	89,31	92,67
9	26,60	39,03	59,80	83,51	96,21	98,59
10	28,39	38,67	61,08	79,41	93,64	97,70
11	26,07	35,67	58,40	80,41	91,40	93,10
12	27,26	38,71	60,80	80,38	93,55	97,09
MÉDIA	26,51	36,84	55,32	74,93	88,96	92,35
DESVIO PADRÃO	1,20	1,48	4,59	6,00	4,74	4,17
DPR	4,54	4,03	8,29	8,01	5,33	4,51

Tabela 50 - Porcentagens de cedência para a construção do perfil de dissolução das cápsulas magistrais

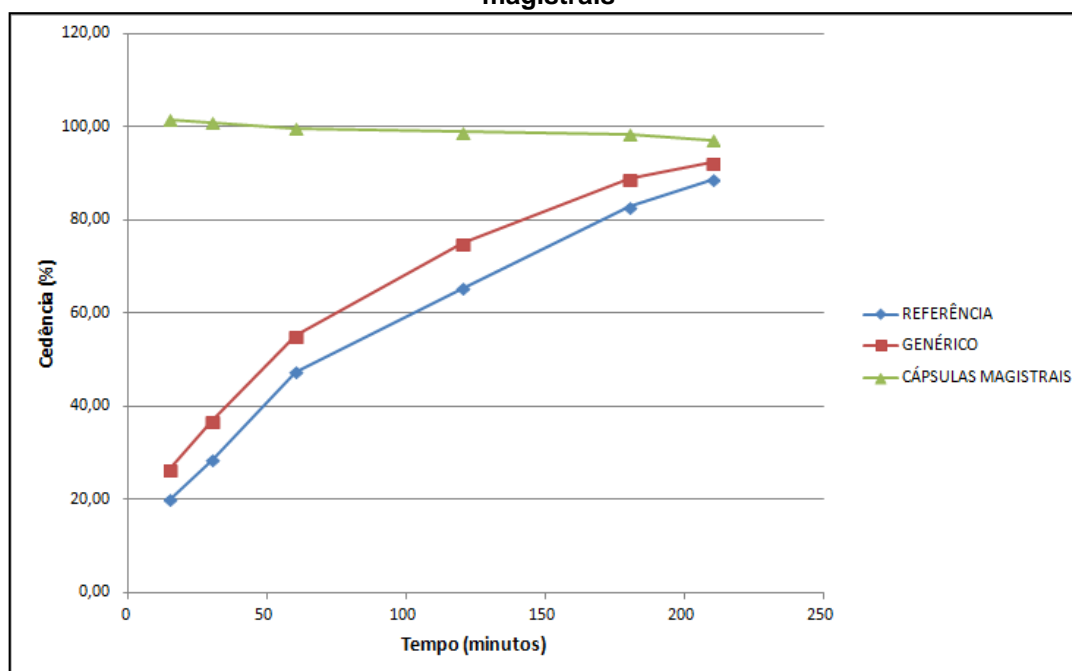
Amostra / Tempo (minutos)	% cedência					
	15	30	60	120	180	210
1	103,06	101,95	101,54	101,53	100,20	98,71
2	96,40	96,36	95,52	94,51	92,42	92,96

Tabela 51 - Porcentagens de cedência para a construção do perfil de dissolução das cápsulas magistrais (continuação)

Amostra / Tempo (minutos)	% cedência					
	15	30	60	120	180	210
3	106,14	101,59	98,94	98,92	97,78	97,45
4	106,40	105,86	104,31	103,37	102,73	101,89
5	99,65	99,57	96,61	96,08	96,46	95,09
6	102,66	102,63	100,87	100,90	100,23	99,73
7	99,22	98,70	97,83	96,52	96,63	95,59
8	101,92	101,92	101,70	100,23	99,51	97,98
9	97,08	97,44	97,04	95,44	95,17	93,29
10	102,35	102,45	100,33	100,09	101,48	97,75
11	106,94	105,12	105,02	104,33	103,35	102,66
12	97,72	97,00	95,73	95,33	94,66	93,58
MÉDIA	101,63	100,88	99,62	98,94	98,38	97,22
DESVIO PADRÃO	3,67	3,09	3,20	3,32	3,41	3,23
DPR	3,61	3,06	3,21	3,35	3,47	3,33

A partir dos dados de porcentagens de cedência e dos tempos de coleta, construiu-se perfis de dissolução para os medicamentos referência, genérico e cápsulas magistrais (Figura 35).

Figura 35 - Perfis de dissolução dos medicamentos referência, genérico e cápsulas magistrais



A comparação dos perfis de dissolução foi feita utilizando-se o modelo independente simples, pelo cálculo do fator de semelhança (F2) e o fator de diferença (F1).

Para que se considere que dois medicamentos possuem perfis de dissolução comparáveis, o valor de F2 deve estar situado entre 50 e 100, ao passo que o valor de F1 deve ser inferior a 15 (BRASIL, 2010; UNITED STATES, 1997). Os valores de F1 e F2 calculados para os perfis de dissolução do medicamento genérico e das cápsulas magistrais em comparação ao perfil de dissolução do medicamento referência são apresentados na Tabela 51.

Na RDC nº 31 de 2010, é preconizado, para que se possa utilizar os valores de médias, que os coeficientes de variação para os primeiros pontos de coleta (40% dos pontos coletados ou, neste caso, os dois primeiros pontos) não excedam 20% e que para os demais pontos não exceda 10%. O terceiro ponto de coleta para o medicamento referência apresentou coeficiente de variação de 11,27%, um pouco superior ao limite especificado na legislação.

Tabela 52 - Valores de F1 e F2 obtidos para a comparação dos perfis de dissolução do medicamento genérico e cápsulas magistrais com o perfil de dissolução do medicamento referência

Parâmetro	Medicamento genérico	Cápsulas magistrais
F1	12,73	79,41
F2	56,60	14,29

Os valores de F1 e F2 calculados para o medicamento genérico estão situados dentro das faixas especificadas nas legislações específicas. Dessa forma, pode-se afirmar que os perfis de dissolução dos medicamentos referência e genérico são semelhantes.

Os valores de F1 e F2 calculados para as cápsulas magistrais não estão situados dentro das faixas especificadas nas legislações específicas. Dessa forma, os perfis de dissolução dos medicamentos referência e cápsulas magistrais não podem ser considerados semelhantes.

Os comprimidos são obtidos pela compressão de uma mistura contendo o fármaco e alguns excipientes, que podem ter funções variadas. Os comprimidos podem ser formulados de forma a apresentar liberação imediata ou liberação modificada, de acordo com os excipientes utilizados e os processos de fabricação empregados. As cápsulas de gelatina dura se desintegram quando em contato com a água, liberando o seu conteúdo. As cápsulas podem ser produzidas de forma a apresentarem liberação modificada utilizando-se, no seu interior, *pellets* revestidos contendo o fármaco. No entanto, quando não se utiliza esse sistema, a cápsula não apresenta controle da liberação do seu conteúdo (JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2007). Como as cápsulas magistrais analisadas não foram formuladas com o sistema de *pellets*, elas não apresentam liberação modificada, liberando prontamente o seu conteúdo no meio de dissolução. Os comprimidos, por outro lado, foram formulados com óleo de rícino hidrogenado, um excipiente que possui a função de proporcionar aos comprimidos uma liberação modificada do fármaco.

O cloridrato de diltiazem na forma farmacêutica comprimidos apresentou liberação modificada *in vitro*, que pode ser evidenciada pelo seu perfil de dissolução. O teste de dissolução utilizado neste trabalho possui dois tempos de coleta, um em 30 minutos e um em três horas. O tempo de coleta de 30 minutos tem por finalidade garantir que a liberação do cloridrato de diltiazem a partir da forma farmacêutica não seja tão rápida, apresentando como critério de aceitação uma liberação inferior a 60% da quantidade rotulada de diltiazem (THE UNITED, 2012). O cloridrato de diltiazem na forma farmacêutica comprimidos de liberação imediata também apresenta uma liberação lenta *in vivo*, apresentando tempo de concentração plasmática máxima entre três e cinco horas (CARDIZEM, 2013).

Embora a água não seja um meio biorrelevante (STORPIRTIS *et al.*, 2011), o teste de dissolução empregado neste trabalho parece poder ser utilizado para prever a liberação *in vivo* do cloridrato de diltiazem a partir de comprimidos, uma vez que o último tempo de coleta utilizado no teste de dissolução é bem próximo do tempo de concentração máxima ($t_{máx}$) para o cloridrato de diltiazem na forma farmacêutica de comprimidos.

Estudo realizado para conversão do uso de comprimidos de liberação imediata contendo cloridrato de diltiazem para cápsulas de liberação prolongada no tratamento de *Angina pectoris* demonstrou não haver diferenças clínicas importantes entre as formas farmacêuticas testadas, nem relacionadas à eficácia do tratamento nem relacionadas à incidência de reações adversas. O estudo estabeleceu que, para a conversão do uso de comprimidos de liberação imediata para cápsulas de liberação prolongada, é razoável converter para a mesma dose, ou caso essa não esteja disponível, para a próxima maior dose disponível da forma farmacêutica de liberação prolongada (POOL *et al.*, 1994).

Estudo realizado com diltiazem como monoterapia para o tratamento de hipertensão arterial demonstrou que o diltiazem administrado sob a forma de comprimidos de liberação imediata possui eficácia quando se utiliza regime posológico de três a quatro vezes por dia (POOL; NAPPI; WEBER, 1990).

No entanto, alguns estudos demonstraram possíveis riscos relacionados a agentes bloqueadores dos canais de cálcio, principalmente às formas farmacêuticas de liberação imediata, no tratamento de hipertensão em pacientes com doenças coronarianas. Formas farmacêuticas de liberação imediata de nifedipino têm causado eventos isquêmicos e podem causar um aumento de mortalidade coronariana quando se utiliza doses elevadas. Existem alguns relatos inconsistentes a respeito de reações adversas relacionadas às formulações de liberação imediata de nifedipino, cloridrato de diltiazem e cloridrato de verapamil. Por isso, a hipertensão arterial deve ser tratada preferencialmente com bloqueadores de canais de cálcio de longa duração ou de formulações que permitam uma liberação prolongada (AHFS DRUG INFORMATION, 2004; SHEPS *et al.*, 1997; SBC; SBH; SBN, 2010).

O teste de dissolução para comprimidos de cloridrato de diltiazem publicado no ano de 1990 na Farmacopeia Americana (USP XXII) era diferente em relação ao teste atualmente empregado para o controle de qualidade desse medicamento. Utilizava-se como meio de dissolução 900 mL de água, velocidade de agitação de 50 rpm e tempo de 45 minutos. O critério de aceitação era de que não menos que 75% da quantidade rotulada de cloridrato de diltiazem fosse liberada do comprimido em 45

minutos (THE UNITED, 1990). Pelos parâmetros estabelecidos para o teste de dissolução, pode-se inferir que os comprimidos de cloridrato de diltiazem disponíveis à época eram de liberação imediata.

O teste de dissolução para comprimidos de cloridrato de diltiazem publicado no ano de 1995 na Farmacopeia Americana (USP 23) sofreu uma alteração em relação ao anterior, tornando-se semelhante ao teste de dissolução atualmente empregado. O teste de dissolução empregava um volume de 900 mL de água como meio de dissolução, velocidade de agitação de 100 rpm e dois pontos de coleta, um em 30 minutos e outro em três horas. O critério de aceitação empregado era de que no máximo 60% da quantidade rotulada se dissolvesse em 30 minutos e no mínimo 80% da quantidade rotulada se dissolvesse em três horas (THE UNITED, 1995). Embora não esteja claro na literatura, pode-se supor que o teste de dissolução foi modificado devido ao fato de a formulação ter sido alterada visando uma liberação modificada do princípio ativo, possivelmente pelo surgimento de relatos do aumento do risco de eventos cardiovasculares em pacientes que utilizavam comprimidos de liberação imediata de fármacos inibidores dos canais de cálcio.

Portanto, não é possível supor que as cápsulas magistrais de cloridrato de diltiazem podem ser utilizadas como alternativa terapêutica aos comprimidos de liberação imediata. Por não possuírem nenhum mecanismo que controle a liberação de cloridrato de diltiazem a partir da forma farmacêutica, as cápsulas apresentam rápida dissolução *in vitro* e, provavelmente, apresentarão uma rápida liberação *in vivo*. Sendo assim, estudos posteriores são necessários para se conhecer os parâmetros farmacocinéticos apresentados por essa forma farmacêutica, estabelecer uma posologia adequada e verificar se a liberação muito rápida do cloridrato de diltiazem não leva a um aumento da ocorrência e gravidade dos efeitos adversos relacionados ao fármaco, visto que as cápsulas são usualmente formuladas nas mesmas dosagens dos comprimidos, 30 mg e 60 mg.

A partir do exposto, recomenda-se que as cápsulas magistrais sejam prescritas com cuidado pelos profissionais prescritores, que além de levar em consideração a história clínica do paciente, devem estar cientes das diferenças farmacocinéticas entre as formas farmacêuticas comprimidos e cápsulas magistrais.

6.2.9 Doseamento

6.2.9.1 Comprimidos dos medicamentos referência e genérico

O teor médio de cloridrato de diltiazem encontrado no medicamento referência (Tabela 52) está próximo do valor rotulado e dentro dos limites especificados, entre 90 e 110% do valor rotulado (THE UNITED, 2012).

Tabela 53 - Determinação do teor de cloridrato de diltiazem no medicamento referência (cardizem)

n	Massa de pó comprimido (mg)	Concentração teórica de DTZ ($\mu\text{g/mL}$)	Concentração real ($\mu\text{g/mL}$)	Teor (%)
1	188,70	30,31	30,65	101,12
2	188,06	30,20	30,01	99,37
3	186,53	29,96	29,82	99,53
		MÉDIA		100,01
		DPR		0,97

O teor médio de cloridrato de diltiazem encontrado no medicamento genérico (Tabela 53) não está tão próximo do valor rotulado, porém está dentro dos limites especificados, entre 90 e 110% do valor rotulado (THE UNITED, 2012).

Tabela 54 - Determinação do teor de cloridrato de diltiazem no medicamento genérico

n	Massa de pó comprimido (mg)	Concentração teórica ($\mu\text{g/mL}$)	Concentração real ($\mu\text{g/mL}$)	Teor (%)
1	147,14	30,28	28,46	93,99
2	145,70	29,98	28,09	93,70
3	146,20	30,09	27,63	91,82
		MÉDIA		93,17
		DPR		1,26

6.2.9.2 Cápsulas magistrais

O teor médio de cloridrato de diltiazem encontrado nas cápsulas magistrais (Tabela 54) está próximo do valor rotulado e dentro dos limites especificados, entre 90 e 110% do valor rotulado.

Tabela 55 - Determinação do teor de cloridrato de diltiazem nas cápsulas magistrais

n	Massa de pó cápsula (mg)	Concentração teórica (µg/mL)	Concentração real (µg/mL)	Teor (%)
1	176,67	30,18	29,39	97,38
2	175,97	30,06	29,73	98,90
3	175,73	30,02	29,77	99,17
		MÉDIA		98,48
		DPR		0,98

Com base nos testes de controle de qualidade realizados para os comprimidos de cloridrato de diltiazem e na monografia de cloridrato de diltiazem comprimidos disponível na Farmacopeia Americana 35ª edição (THE UNITED, 2012), foi elaborada uma proposta de monografia para a inclusão na Farmacopeia Brasileira 6ª edição (APÊNDICE B - Proposta de monografia de cloridrato de diltiazem comprimidos para inclusão na Farmacopeia Brasileira 6ª edição, página 134).

7 CONCLUSÕES

- Um método analítico indicador de estabilidade para a determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas magistrais foi desenvolvido e validado, apresentando seletividade em relação aos excipientes das formulações e aos produtos de degradação, linearidade, precisão, exatidão e robustez adequados.
- Os comprimidos de cloridrato de diltiazem, medicamentos referência e genérico, cumpriram com as especificações dos testes de determinação de peso, dureza, friabilidade, desintegração, uniformidade de doses unitárias, dissolução e perfil de dissolução, cumprindo todos os requisitos de qualidade especificados.
- As cápsulas magistrais de cloridrato de diltiazem cumpriram com as especificações dos testes de determinação de peso, desintegração, uniformidade de doses unitárias e doseamento. As cápsulas magistrais não cumpriram com as especificações dos testes de dissolução e perfil de dissolução. As cápsulas liberam o princípio ativo rapidamente, diferentemente dos comprimidos.
- Não foi observada degradação significativa para o cloridrato de diltiazem nas condições utilizadas durante os testes de dissolução e de perfil de dissolução, mesmo tendo o ativo sido liberado rapidamente a partir das cápsulas magistrais. Porém, mais estudos seriam necessários para saber se as condições empregadas são adequadas para os estudos de dissolução e de perfil de dissolução das cápsulas magistrais.
- Não é possível supor que as cápsulas magistrais de cloridrato de diltiazem possam ser utilizadas como alternativa terapêutica aos comprimidos de cloridrato de diltiazem. Estudos posteriores são necessários para se conhecer os parâmetros farmacocinéticos apresentados pela forma farmacêutica, estabelecer uma posologia adequada e verificar se a liberação muito rápida

do cloridrato de diltiazem não leva a um aumento da ocorrência e gravidade dos efeitos adversos relacionados ao fármaco. Ainda, pode ser desenvolvida uma nova formulação para as cápsulas magistrais que confirmam a elas uma liberação modificada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AD HOC SUBCOMMITTEE OF THE LIAISON COMMITTEE OF THE WORLD HEALTH ORGANISATION AND THE INTERNATIONAL SOCIETY OF HYPERTENSION. Effects of calcium antagonists on the risks of coronary heart disease, cancer and bleeding. *Journal of Human Hypertension*, v. 11, p. 331-342, 1997.

AGALLOCO, J.; CARLETON, F. J. *Validation of pharmaceutical processes*. 3th ed. New York: Informa Healthcare, 2008.

AGILENT TECHNOLOGIES (United States). **The secrets of good peak shape in HPLC**. 2014. 44 slides, color.

AHFS DRUG INFORMATION, Bethesda: American Society of Health-System Pharmacists, 2004. 3731 p.

ARAÚJO, L. U.; ALBUQUERQUE, K. T.; KATO, K. C.; SILVEIRA, G. S.; MACIEL, N. R.; SPÓSITO, P. A., *et al.* Medicamentos genéricos no Brasil: panorama histórico e legislação. *Revista Panamericana de Salud Pública*, v. 28, n. 6, p. 480-492, 2010.

BARANCELLI, R.; FERREIRA, J. R. N. Avaliação físico-química de cápsulas manipuladas de prednisona no município de Erechim, RS. *Evidência*, v. 7, n. 1, p. 51-62, 2007.

BONFILIO, R.; EMERICK, G. L.; JÚNIOR, A. N.; SALGADO, H. R. N. Farmácia magistral: sua importância e seu perfil de qualidade. *Revista Baiana de Saúde Pública*, v. 34, n. 3, p. 653-664, 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no. 31, de 11 de Agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Poder Executivo, de 12 de Agosto de 2010.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no. 37, de 06 de Julho de 2009. Trata da admissibilidade das farmacopéias estrangeiras. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Poder Executivo, de 08 de Julho de 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no. 67, de 08 de Outubro de 2007. Dispõe sobre boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácias. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Poder Executivo, de 09 de Outubro de 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE no. 899, de 29 de Maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Poder Executivo, de 02 de Junho de 2003.

BRASIL. Lei no. 9.787, de 10 de Fevereiro de 1999. Altera a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, Poder Executivo, de 11 de Fevereiro de 1999.

BRITISH Pharmacopoeia 2014. London: Her majesty's Stationary Office, 2013.

BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. Goodman & Gilman. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 11 ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 2006. 1821 p.

BUUR, J. L.; BAYNES, R. E.; YEATTS, G.D.; DAVIDSON, G.; DEFRANCESCO, T. C. Analysis of diltiazem in Lipoderm® transdermal gel using reversed-phase high-performance liquid chromatography applied to homogenization and stability studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 38, p. 60-65, 2005.

CAIAFFA, M. C.; OLIVEIRA, D. L.; PINHEIRO, V. A.; GUERRA, M. O.; PINHO, J. J. R. G. Estudo biofarmacotécnico de cápsulas de amoxicilina. Análise comparativa de produtos industrializados e magistrais. Cinética de dissolução. *Revista Lecta*, v. 20, n. 1, p. 77-90, 2002.

CARDIZEM: comprimidos. Responsável técnico Dímitra Apostolopoulou. Itapeverica da Serra: Boehringer Ingelheim do Brasil Quím. e Farm. Ltda, 2013. Bula de remédio.

CARRETERO, O. A.; OPARIL, S. Essential Hypertension: Part II: Treatment. *Circulation*, v. 101, p. 446-453, 2000.

CHATPALLIWAR, V. A.; PORWAL, P. K.; UPMANYU, N. Validated gradient stability indicating HPLC method for determining Diltiazem Hydrochloride and related substances in bulk drug and novel tablet formulation. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, v. 2, n. 3, p. 226-237, 2012.

CHAUDHARY, R. S.; GANGWAL, S. S.; AVACHAT, M. K.; JINDAL, S.; JINDAL, K. C. Determination of diltiazem hydrochloride in human serum by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography, Biomedical Applications*, v. 614, p. 261-266, 1993.

CHEN, G. J.; YANG, M. S. The effects of calcium channel blockers in the prevention of stroke in adults with hypertension: a meta-analysis of data from

273,543 participants in 31 randomized controlled trials. *Plos One*, v. 8, n. 3, p. 1-9, 2013.

CHOBANIAN, A. V. *et al.* The seventh report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *Hypertension*, v. 42, n. 6, p. 1206–1252, 2003.

FARMACOPEIA Brasileira, 5a edição. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

FARMACOPÉIA portuguesa VII: edição oficial 2002. Lisboa: Imprensa Nacional de Lisboa, 2002. p.1158-1159.

FIHN, S. D. *et al.* 2012 ACCF/AHA/ACP/AATS/PCNA/SCAI/STS Guideline for the diagnosis and management of patients with stable ischemic heart disease. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 60, n. 24, p. e44-e164, 2012.

FOX, K. *et al.* Guidelines on the management of stable angina pectoris: The task force on the management of stable angina pectoris of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal*, v. 27, n. 11, p. 1341-1381, 2006.

GIBBONS, R. J. *et al.* Guidelines for the management of patients with chronic stable angina: Executive summary and recommendations: A report of the American College of Cardiology/ American Heart Association Task Force on practice guidelines (Committee on Management of Patients with chronic stable angina). *Circulation*, v. 99, p. 2829-2848, 1999.

GREEN, J. M. A practical guide to analytical method validation. *Analytical Chemistry*, Washington, v. 68, p. 305A-309A, 1996.

HANSSON, L.; HEDNER, T.; LUND-JOHANSEN, P.; KJELDSEN, S. E.; LINDHOLM, L. H.; SYVERTSEN, J. O. *et al.* Randomised trial of effects of calcium antagonists compared with diuretics and β -blockers on cardiovascular morbidity and mortality in hypertension: the Nordic Diltiazem (NORDIL) study. *Lancet*, v. 356, p. 359-365, 2000.

INTERNATIONAL Conference on Harmonization – ICH. *Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)*. Geneva: ICH Secretariat, 2005. 17p.

JÚNIOR, F. P.; ESCARRONE, A. L. V. E.; BITTENCOURT, C. F.; SANTOS, M. R.; LAPORTA, L. V. Perfis de dissolução comparativos entre cápsulas manipuladas de cloridrato de propranolol e o medicamento referência. *Disciplinarum Scientia*, v. 6, n. 1, p. 35-43, 2005.

JUNIOR, L. V. A.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. *Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos*. 8a ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 775 p.

KATZUNG, B. G. *Farmacologia básica e clínica*. 10 ed. Porto Alegre: AMGH editora/Mc Graw Hill, 2010. 1046 p.

LACROIX, P. M.; BEAULIEU, N.; CYR, T. D.; LOVERING, E. G. High-Performance Liquid Chromatography Method for Assay of Diltiazem Hydrochloride and Its Related Compounds in Bulk Drug and Finished Tablets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 78, n. 3, p. 243-246, 1989.

LEAL, L. B.; SILVA, M. C. T.; SANTANA, D. P. Preços x qualidade e segurança de medicamentos em farmácias magistrais: ênfase em fármacos utilizados no tratamento de doenças reumatológicas. *Infarma*, v. 19, n. 1/2, p. 28-31, 2007.

LI, K.; ZHANG, X.; ZHAO, F. HPLC determination of diltiazem in human plasma and its application to pharmacokinetics in humans. *Biomedical Chromatography*, v. 17, p. 522-525, 2003.

MARKMAN, B. E. O.; ROSA, P. C. P.; KOSCHTSCHAK, M. R. W. Avaliação da qualidade de cápsulas de sinvastatina de farmácias magistrais. *Revista de Saúde Pública*, v. 44, n. 6, p. 1055-1062, 2010.

MENEGHINI, L. Z.; ADAMS, A. I. H. Avaliação físico-química de cápsulas de diazepam manipuladas em farmácias magistrais de Passo Fundo/RS. *Revista Brasileira de Farmácia*, v. 88, n. 2, p. 67-70, 2007.

MOFFAT, A. C.; OSSELTON, M. D.; WIDDOP, B. (Ed). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. 3th edition. London: Pharmaceutical Press, 2004, v. 2, p. 925-926.

NHS (National Institute for Health and Clinical Excellence). Quick reference guide - Management of stable angina. London: NICE, 2011. 13 p. Disponível em: <www.nice.org.uk> Acesso em 12 de Maio de 2014.

NISHI, H.; NAGAMATSU, K. New trend in the LC separation analysis of pharmaceuticals - High performance separation by ultra high-performance liquid chromatography (UHPLC) with core-shell particle C18 columns. *Analytical Sciences*, v. 30, p. 205-211, 2014.

NOBRE, F.; COELHO, E. B.; LOPES, P. C.; GELEILETE, T. J. M. Hipertensão arterial sistêmica primária. *Medicina (Ribeirão Preto)*, v. 46, n. 3, p. 256-272, 2013.

NOGUEIRA, F. H. A. *Avaliação Pontual da Qualidade de Antimaláricos no Sistema Único de Saúde - SUS*. [Dissertação] Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2007.

O'NEIL, M. J. (Ed.). The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 14th ed. Whitehouse Station, New Jersey: Merck, 2006. p. 3204.

PINHEIRO, G. M. *Determinação e avaliação de indicadores da qualidade em farmácia magistral - preparação de cápsulas gelatinosas duras.* [Tese] Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Farmácia. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2008.

POOL, P. E.; MASSIE, B. M.; VENKATARAMAN, K.; HIRSCH, A. T.; SAMANT, D. R.; SEAGREN, S. C.; GAW, J.; SALEL, A. F.; TUBAU, J.F. Diltiazem as monotherapy for systemic hypertension: a multicenter, randomized, placebo-controlled trial. *American Journal of Cardiology*, v. 57, p. 212-217, 1986.

POOL, P. E.; NAPPI, J. M.; WEBER, M. A. Antihypertensive Monotherapy with Tablet (Prompt-Release) Diltiazem: Multicenter Controlled Trials. *Cardiovascular Drugs and Therapy*, v. 4, p.1089-1096, 1990.

POOL, P. E.; THADANI, U.; MILLER, A. B.; FROMELL, G. J.; EFF, J. Conversion from Immediate-Release to Extended-Release Diltiazem in Angina Pectoris. *Clinical Cardiology*, v. 17, n. 1, p.484-488, 1994.

QUAGLIA, M. G.; DONATI, E.; FANALI, S.; BOSSÙ, E.; MONTINARO, A.; BUIARELLI, F. Analysis of diltiazem and its related substances by HPLC and HPLC/MS. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 37, p. 695-701, 2005.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. *Farmacologia*. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007. 829 p.

ROMERO, F. L.; ALONSO, V. B.; ARCOS, F. S.; PERALTA, L. P.; FERNÁNDEZ, J. M. C.; ABADAL, L. T.; PADIAL, L. R.; JUANATEY, J. R. G. Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en hipertensión arterial. *Revista Española de Cardiología*, v. 53, p. 66-90, 2000.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. (Ed.). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6th ed. London: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association, 2009. 888 p.

SBC (Sociedade Brasileira de Cardiologia); SBH (Sociedade Brasileira de Hipertensão); SBN (Sociedade Brasileira de Nefrologia). VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 95, 1 supl. 1, p. 1-51, 2010.

SBC (Sociedade Brasileira de Cardiologia); SBH (Sociedade Brasileira de Hipertensão); SBN (Sociedade Brasileira de Nefrologia). V Diretrizes Brasileiras

de Hipertensão. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, v. 89, n. 3, p. e24-e79, 2007.

SCULLY, P.; MEEHAN, E.; KELLY, J. G. High-performance liquid chromatographic assay for diltiazem in small-volume blood specimens and application to pharmacokinetic studies in rats. *Journal of Chromatography A*, v. 729, p. 297-300, 1996.

SHEPS, S.G. *et al.* The sixth report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure: the JNC 6. National Institutes of Health - *NIH Publication*, n. 98-4080, nov. 1997.

SILVA, P. *Farmacologia*. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010. 1325 p.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. *Practical HPLC method development*. 2th ed. New York: John Wiley & Sons, 1997. 765p.

SOUZA, S. V. C.; JUNQUEIRA, R. G. A procedure to assess linearity by ordinary least squares method. *Analytica Chimica Acta*, v. 552, p.25-35, 2005.

STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. *Biofarmacotécnica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 352 p. (Ciências Farmacêuticas).

SULTANA, N.; ARAYNE, M. S.; SHAFI, N. A validated method for the analysis of diltiazem in raw materials and pharmaceutical formulations by RP-HPLC. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 20, n. 4, p. 279-284, 2007.

THE EUROPEAN Pharmacopoeia. 7 ed. Strasbourg: Directorate for the Quality of Medicines of the Council of Europe (EDQM), 2010.

THE UNITED States Pharmacopeia. USP 23. 23 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1995.

THE UNITED States Pharmacopeia. USP 35. 35 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2012.

THE UNITED States Pharmacopeia. USP XXII. 22 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 1990.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis. *Pure and Applied Chemistry*, v. 74, p. 835-855, 2002.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Reviewer Guidance: Validation of Chromatographic Methods. Rockville:FDA, 1994. 33 p.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Rockville:FDA, 1997. 17 p.

UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Pharmacy compounding of human drug products under section 503A of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act. Rockville:FDA, 2013. 11 p.

USP Medicines Compendium. Diltiazem hydrochloride. U. S. Pharmacopeial Convention, 2013. Disponível em: <<http://mc.usp.org/monographs/diltiazem-hydrochloride-1-0>>. Acesso em: 4 maio 2014.

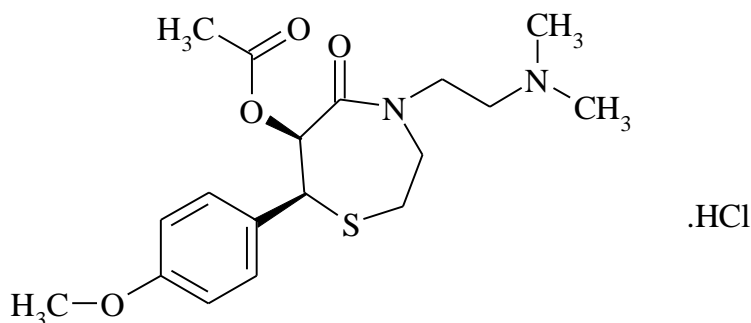
WHO (World Health Organization). *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*. Geneva: World Health Organization, 2011. Disponível em http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241564373_eng.pdf [acesso em 14 de abril de 2014]

WILLIAMS, B. The year in hypertension. *Journal of the American College of Cardiology*, v. 55, n. 1, p. 65-73, 2010.

WODLINGER, A. M. Cardiovascular Drugs. In: *Remington: The science and practice of pharmacy*. 21th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2005, p. 1350-1370.

APÊNDICE A - Proposta de monografia de cloridrato de diltiazem insumo farmacêutico ativo para inclusão na Farmacopeia Brasileira 6ª edição.

CLORIDRATO DE DILTIAZEM
Diltiazemi hydrochloridum



$C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$; 450,98

Cloridrato de diltiazem; 03038

Cloridrato de (2S,3S)-3-acetiloxi-5-[2-(dimetilamino)etil]-2,3-di-hidro-2-(4-metoxifenil)-1,5-benzotiazepin-4(5H)-ona
 [33286-22-5]

Contém, no mínimo, 98,5% e, no máximo, 101,0% de ($C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$), em relação à substância dessecada.

DESCRIÇÃO

Características físicas. Pó cristalino branco ou quase branco.

Solubilidade. Facilmente solúvel em água, em metanol e em diclorometano, pouco solúvel em etanol anidro.

Constantes físico-químicas.

Temperatura de fusão (5.2.2): entre 207,5 °C e 212,0 °C, com decomposição.

IDENTIFICAÇÃO

A. O espectro de absorção no infravermelho (5.2.14) da amostra, previamente dessecada, dispersa em brometo de potássio, apresenta máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de cloridrato de diltiazem SQR, preparado de maneira idêntica.

B. Responde às reações do íon cloreto (5.3.3.1).

ENSAIOS DE PUREZA

Aspecto da solução. Dissolver 1 g da amostra em água isenta de dióxido de carbono e diluir para 20 mL com o mesmo solvente. A solução é límpida (5.2.25) e incolor (5.2.12).

pH (5.2.19). Determinar em solução a 1% (p/v) preparada em água isenta de dióxido de carbono e proceder conforme descrito em *Determinação do pH*. Entre 4,3 e 5,3.

Perda por dessecação (5.2.9). Determinar em 1 g da amostra. Dessecar em estufa a 105 °C por 2 horas. No máximo 0,5%.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Titulações em meio não aquoso (5.3.3.5)*. Dissolver 0,4 g da amostra em uma mistura contendo 2 mL de ácido fórmico anidro e 60 mL de anidrido acético. Titular com ácido perclórico 0,1 M SV, determinando o ponto final potenciométricamente. Realizar ensaio em branco e fazer as correções necessárias. Cada mL de ácido perclórico 0,1 M SV equivale a 45,098 mg de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegido da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

CLASSE TERAPÊUTICA

Anti-hipertensivo, antianginoso, antiarrítmico.

APÊNDICE B - Proposta de monografia de cloridrato de diltiazem comprimidos para inclusão na Farmacopeia Brasileira 6ª edição.

CLORIDRATO DE DILTIAZEM COMPRIMIDOS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$. Os comprimidos podem ser revestidos.

IDENTIFICAÇÃO

O tempo de retenção do pico principal do cromatograma da *Solução amostra*, obtida em *Doseamento*, corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão*.

CARACTERÍSTICAS

Determinação de peso (5.1.1). Cumpre o teste.

Teste de dureza (5.1.3.1). Cumpre o teste.

Teste de friabilidade (5.1.3.2). Cumpre o teste.

Teste de desintegração (5.1.4.1). Cumpre o teste.

Uniformidade de doses unitárias (5.1.6). Cumpre o teste.

Procedimento para uniformidade de conteúdo. Triturar cada comprimido individualmente e transferir, quantitativamente, o pó para balão volumétrico de 100 mL. Adicionar 50 mL metanol e deixar em ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com água, homogeneizar e filtrar. Realizar diluições sucessivas até concentração de 30 µg/mL, utilizando uma mistura de metanol e água (50:50) como solvente. Prosseguir conforme descrito em *Doseamento*.

TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

Meio de dissolução: água, 900 mL

Aparelhagem: pás, 75 rpm

Tempos: 30 minutos e 3 horas

Procedimento: nos tempos de coleta, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir, se necessário, com água, até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 237 nm (5.2.14), utilizando o *Meio de dissolução* para o ajuste do zero. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$ dissolvida no meio, comparando as leituras obtidas com a da solução de cloridrato de diltiazem SQR na concentração de 0,001% (p/v), preparada no mesmo solvente.

Tolerância: não mais que 60% (Q) da quantidade declarada de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$ se dissolvem em 30 minutos e não menos que 75% (Q) da quantidade declarada de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$ se dissolvem em 3 horas.

DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 240 nm; coluna de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (5 µm), mantida a 30 °C; fluxo da *Fase móvel* de 1 mL/minuto.

Nota: preparar as soluções imediatamente antes do uso.

Solução de ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) em água: transferir 0,5 mL de ácido trifluoroacético para balão volumétrico de 1000 mL contendo água e completar o volume com o mesmo solvente.

Solução de ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) em metanol: transferir 0,5 mL de ácido trifluoroacético para balão volumétrico de 1000 mL contendo metanol e completar o volume com o mesmo solvente.

Fase móvel: mistura da *Solução de ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) em metanol* e da *Solução de ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) em água (56:44)*.

Solução amostra: pesar e pulverizar 20 comprimidos. Transferir quantidade de pó equivalente a 30 mg de cloridrato de diltiazem para balão volumétrico de 100 mL, adicionar 50 mL de metanol e deixar em ultrassom por 10 minutos. Completar o volume com água, homogeneizar e filtrar. Diluir, quantitativamente, para obter uma solução com concentração de 30 µg/mL.

Solução padrão: dissolver quantidade, exatamente pesada, de cloridrato de diltiazem SQR em uma solução de metanol e água (50:50) e diluir adequadamente de modo a obter solução a 30 µg/mL.

Procedimento: injetar, separadamente, 20 µL da *Solução padrão* e da *Solução amostra*, registrar os cromatogramas e medir as áreas sob os picos. Calcular a quantidade de $C_{22}H_{26}N_2O_4S \cdot HCl$ nos comprimidos a partir das respostas obtidas para a *Solução padrão* e a *Solução amostra*.

EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados, protegidos da luz.

ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

APÊNDICE C - Resumo submetido e aprovado para apresentação na sessão de pôsteres do SIMCRO 2014 - Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Afins, a ser realizado na cidade de Campos do Jordão - SP, em setembro/2014.

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAÇÃO DE DILTIAZEM EM FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS

Mateus A. C. e Souza; Gerson A. Pianetti; Fernando H. A. Nogueira

Laboratório de Controle de Qualidade, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, Brasil

mateusarsouza@yahoo.com.br

Introdução

O diltiazem é um antagonista dos canais de cálcio, sendo utilizado no tratamento de arritmias cardíacas, da hipertensão e na prevenção de angina. Existem vários métodos analíticos reportados na literatura para a determinação de diltiazem em comprimidos e para a determinação de substâncias relacionadas em insumo farmacêutico. Um método analítico indicador de estabilidade foi encontrado na literatura, mas esse é demorado e incompatível para acoplamento com detector de massas.

Objetivo

Desenvolver e validar um método analítico indicador de estabilidade para a determinação de cloridrato de diltiazem em comprimidos e cápsulas magistrais.

Métodos

Utilizou-se coluna cromatográfica de octadecilsilano, 150 x 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm. Diferentes fases aquosas foram testadas, sendo elas ácido acético 0,1% (v/v), ácido fórmico 0,1% (v/v), tampão acetato de amônio-ácido fórmico e ácido trifluoroacético 0,05% (v/v). A melhor condição isocrática testada foi determinada pela avaliação dos parâmetros cromatográficos, sendo eles fator de retenção, número de pratos teóricos e assimetria 10% para o pico de cloridrato de diltiazem. As condições cromatográficas foram otimizadas durante a realização dos testes de degradação forçada nos meios aquoso, ácido, básico e oxidativo. O método analítico foi validado de acordo com os seguintes parâmetros: seletividade, linearidade, intervalo, precisão, limites de detecção e quantificação, exatidão e robustez.

Resultados

A fase aquosa de ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) apresentou os melhores valores de fator de retenção, número de pratos teóricos e assimetria 10%. Os parâmetros cromatográficos da condição isocrática otimizada são: fase móvel composta por metanol, acidificado com ácido trifluoroacético 0,05% (v/v), e ácido trifluoroacético 0,05% (v/v) em água, na proporção de 56:44, respectivamente; fluxo de fase móvel de 1,0 mL/min; temperatura de 30 °C e comprimento de onda de detecção de 240 nm. O método demonstrou ser seletivo, com resolução mínima de 2,0 entre todos os picos; linear, com coeficiente de determinação de 0,9995 e distribuição aleatória dos resíduos; exato, com recuperações médias entre 98 e 102%; preciso, com valores de DPR inferiores a 5%; e robusto, para variações de fluxo de fase móvel, porcentagem de solvente orgânico e temperatura. Os limites de detecção e quantificação foram de 0,15 µg/mL e 0,75 µg/mL, respectivamente.

Conclusão

O método analítico foi validado de acordo com as legislações específicas e demonstrou ser seletivo para a determinação de cloridrato de diltiazem na presença de seus produtos de degradação, podendo ser utilizado durante estudos de estabilidade de medicamentos.

Agradecimentos - À CAPES, FAPEMIG e Farmacopeia Brasileira pelo apoio financeiro.

APÊNDICE D - Resumo submetido para apresentação na sessão de pôsteres do Simcifar 2014 - Simpósio em Ciências Farmacêuticas, a ser realizado na cidade de Belo Horizonte - MG, em agosto/2014.



Simpósio em Ciências Farmacêuticas (SIMCIFAR 2014/UFMG)

ESTUDO COMPARATIVO DE DUAS FORMAS FARMACÊUTICAS DE CLORIDRATO DE DILTIAZEM

SOUZA, M. A. C.^{1*}; NOGUEIRA, F. H. A.²; PIANETTI, G. A.¹

¹ Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte (MG), Brasil

² Departamento de Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal (RN), Brasil

*mateusarsouza@yahoo.com.br

Palavras-chave: Cloridrato de diltiazem. Comprimidos. Cápsulas magistrais. Controle de qualidade. Dissolução. Perfil de dissolução.

INTRODUÇÃO

O cloridrato de diltiazem é um fármaco amplamente utilizado na clínica e também manipulado em farmácias magistrais. As cápsulas magistrais de cloridrato de diltiazem são usadas como se fossem intercambiáveis com o medicamento referência. Dessa forma, este estudo tem por finalidade realizar um estudo comparativo entre cápsulas magistrais e comprimidos dos medicamentos referência e genérico contendo cloridrato de diltiazem.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Amostras de comprimidos dos medicamentos referência e genérico e de cápsulas magistrais contendo cloridrato de diltiazem foram avaliadas pelos testes de determinação de peso, desintegração, uniformidade de doses unitárias, doseamento, dissolução e perfil de dissolução^{1,2}. Os comprimidos também foram avaliados pelos testes de dureza e friabilidade¹. Todos os medicamentos foram considerados adequados em relação aos testes de determinação de peso, dureza e friabilidade (comprimidos), uniformidade de doses unitárias e doseamento. Os comprimidos não se desintegraram em 30 minutos, ao passo que as cápsulas se desintegraram em cinco minutos. No entanto, os comprimidos não foram considerados reprovados, uma vez que parecem apresentar liberação modificada. No teste de dissolução, as cápsulas magistrais apresentaram alta porcentagem de cedência em 30 minutos, sendo consideradas reprovadas no teste. Os comprimidos atenderam as especificações do teste de dissolução. Os perfis de dissolução das cápsulas magistrais e do medicamento

genérico foram comparados ao perfil de dissolução do medicamento referência pelo modelo independente. Os perfis com valores de f1 inferiores a 15 e valores de f2 entre 50 e 100 foram considerados semelhantes^{3,4}. O perfil do medicamento genérico foi considerado semelhante ao do referência, com f1 igual a 12,73 e f2 igual a 56,60. Os perfis de dissolução das cápsulas foram considerados diferentes em relação aos do medicamento referência, com f1 igual a 79,41 e f2 igual a 14,29.

CONCLUSÃO

As cápsulas magistrais foram consideradas adequadas em todos os testes de controle de qualidade realizados, com exceção dos testes de dissolução e de perfil de dissolução, uma vez que liberam rapidamente o princípio ativo, diferentemente dos comprimidos. Portanto, não é possível supor que as cápsulas magistrais de cloridrato de diltiazem possam ser utilizadas como alternativa terapêutica aos comprimidos de cloridrato de diltiazem.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e à Farmacopeia Brasileira pelo apoio financeiro.

1 FARMACOPEIA Brasileira, 5ª edição. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010.

2 THE UNITED States Pharmacopeia. USP 35. 35 ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2012.

3 BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC no. 31, de 11 de Agosto de 2010.

4 UNITED STATES. Department of Health and Human Services. Food and drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). Guidance for industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms. Rockville:FDA, 1997.