

**PAULA CRISTINA REZENDE ENÉAS**

**OXCARBAZEPINA: DESENVOLVIMENTO E  
VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS DE  
CONTROLE DE QUALIDADE. APLICAÇÃO EM  
FORMULAÇÕES MAGISTRAIS.**

**Belo Horizonte**

**2008**

**PAULA CRISTINA REZENDE ENÉAS**

**OXCARBAZEPINA: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE  
MÉTODOS ANALÍTICOS DE CONTROLE DE QUALIDADE.  
APLICAÇÃO EM FORMULAÇÕES MAGISTRAIS.**

**Dissertação, como requisito parcial, para  
obter o grau de mestre em Ciências  
Farmacêuticas, submetida ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas  
da Faculdade de Farmácia da Universidade  
Federal de Minas Gerais.**

**Orientador Prof. Dr. Gerson Antônio Pianetti - UFMG**

**Belo Horizonte - MG**

**2008**

E56o

Enéas, Paula Cristina Rezende

Oxcarbazepina: desenvolvimento e validação de métodos analíticos de controle de qualidade – aplicação em formulações magistrais / Paula Cristina Rezende Enéas. – 2008.

166 f. : il.

Orientador: Prof. Gerson Antônio Pianetti

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Oxcarbazepina - Teses. 2. Medicamentos - Controle de qualidade - Teses. 3. Cápsulas (Farmácia) – Teses. 4. Validação de método - Teses. 5. Tecnologia farmacêutica – Teses. 6. Espectrofotometria – Teses. I. Pianetti, Gerson Antônio. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Farmácia.

CDD 615.43

*Dedico este trabalho ao meu Avô Juquita, pai de meu pai, farmacêutico formado pela Faculdade de Farmácia da UFMG em 1921. Obrigada pela gota de orvalho farmacêutico que depositou em minha alma, melhor herança que me deixou.*

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pela força em tudo o que faço, por guiar minhas escolhas, por colocar em meus caminhos os desafios, pelo reconhecimento das oportunidades e pela vida, uma caixinha de surpresas.

A meus pais, Jurandi e Lizardo, por valorizar a educação e me incentivar em tudo, por acreditar em meu potencial e por sempre esperar o melhor de mim e orgulhar de minhas conquistas.

A Luciana, querida irmã dedicada e grande exemplo em minha vida.

Ao André, pelo incentivo, amizade, pelas contribuições técnicas, por compartilhar as ciências farmacêuticas e por encher minha vida de amor e ternura.

Ao Professor Gerson Antônio Pianetti, meu orientador e padrinho, por acreditar, confiar e valorizar seus alunos, por abraçar a profissão de Farmacêutico e acreditar no crescimento da pesquisa nacional e no valor dessa profissão. Muito obrigada!

A Renata Barbosa, minha amiga e professora, pelo trabalho conjunto, pelas horas dedicadas e pelo convívio sempre agradável.

Aos professores Cristina Duarte Vianna Soares, Lígia Maria Moreira de Campos, Elzília de Aguiar Nunan e Antônio Basílio Pereira pelas contribuições técnicas, ensinamentos e pelo convívio agradável.

Aos alunos Karina Alves, Raquel Benedetto e Tiago Assis pela colaboração durante a execução dessa pesquisa.

Aos co-orientadores e amigos do Laboratório de Controle de Qualidade: André Lima, André Nascimento, Fernando, José Antônio, Isabela, Ana Gabriela, Leonardo, Taízia, Janaína, Luciano, Giovanni Bertollo, Écio e Miriam pelas contribuições técnicas, pela amizade construída e por me fazer crescer.

A meu padrinho Tio Gabriel que com certeza onde estiver estará me aplaudindo de pé.

A Tia Nadir, Tia Maria, Tia Dja, Tio Oscar e Sônia pelos laços de afeto e união em nossa família.

A Vanessa, minha amiga, por sempre estar disposta a ajudar.

Aos amigos do Laboratório Central de Minas Gerais do Serviço de Medicamentos, Saneantes e Cosméticos, do Instituto Octávio Magalhães, da Fundação Ezequiel Dias pelas contribuições técnicas e pela compreensão.

A Farmacopéia Brasileira pela oportunidade de trabalhar no Projeto e pelo conhecimento adquirido.

A Faculdade de Farmácia da UFMG, seus professores e funcionários, agradeço o capital intelectual que me foi oferecido todos esses anos.

Ao Instituto Racine e seus funcionários, pela oportunidade de concluir a especialização *Lato sensu* em Manipulação Magistral Alopática e pelos conhecimentos adquiridos.

Ao Laboratório Cristália pelo fornecimento da matéria-prima.

*“Que os nossos esforços desafiem as impossibilidades. Lembrai-vos que as grandes proezas da história foram conquistadas do que parecia impossível.”*

Charles Chaplin

## RESUMO

Oxcarbazepina, fármaco anticonvulsivante, é um análogo ceto da carbamazepina, apresentando melhor tolerabilidade, segurança e perfil farmacocinético quando comparado à carbamazepina. Devido ao baixo índice terapêutico desse fármaco, o controle de qualidade de formulações magistrais contendo oxcarbazepina é essencial para a produção de formas farmacêuticas que satisfaçam aos parâmetros de eficácia, segurança e qualidade. O objetivo pretendido com a pesquisa foi determinar parâmetros de qualidade para oxcarbazepina, matéria-prima e cápsulas, e propor uma formulação magistral padrão. Método por espectrofotometria de absorção na região ultravioleta foi desenvolvido e validado para doseamento de oxcarbazepina matéria-prima e cápsulas manipuladas. O método foi seletivo, linear, preciso, exato e robusto e é viável de ser aplicado em uma farmácia magistral. Método por cromatografia líquida de alta eficiência foi adaptado e validado para o doseamento de oxcarbazepina matéria-prima e apresentou seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limite de detecção e de quantificação adequados. Três formulações magistrais para cápsulas de oxcarbazepina 150 mg foram desenvolvidas, em processo de manipulação proposto e validado, e avaliadas em relação às propriedades: fluidez, peso médio, desintegração, teor, uniformidade de conteúdo e dissolução. O perfil de dissolução comparativo contribuiu para avaliar a influência da mistura de excipientes na solubilização de OXC.

**Palavras-chave:** oxcarbazepina; cápsulas magistrais; espectrofotometria no ultravioleta; CLAE; validação.

## ABSTRACT

Oxcarbazepine, an anticonvulsant drug, is a keto analog of carbamazepine, which has an improved tolerability, safety and pharmacokinetic profile compared to carbamazepine. Because of the low therapeutic index of this drug, the quality control of formulation containing oxcarbazepine is essential to manufacture pharmaceutical dosage forms with efficacy, safety and quality requirements. The objective of this research is to determine quality parameters for oxcarbazepine, raw material and compounded capsules, and to establish a standard formulation. An ultraviolet absorption spectrophotometric method was development and validated for assay of oxcarbazepine raw material and compounded capsules. The method presented specificity, linearity, precision, accuracy and robustness and is viable of being applied in a compounding pharmacy. A high performance liquid chromatography method was adapted and validated for the oxcarbazepine assay for raw material and presented specificity, linearity, precision, accuracy, robustness and adequate limits of detection and quantification. Three formulations of oxcarbazepine capsules were developed, by a proposed and validated process of compounding, and evaluated for characteristics such flowability, weight variation, disintegration time, assay, uniformity of content and dissolution. The comparative release profile contributed to evaluate the influence of the mixture of excipientes in the dissolution of oxcarbazepine.

Keywords: oxcarbazepine; capsules compounded; UV spectrophotometric method; HPLC; validation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Caminho metabólico de OXC. MHD = derivado 10-monohidroxi; R-MHD = enantiômero R de MHD; S-MHD = enantiômero S do MHD; DHD = derivado dihidroxilado.	37
Figura 2	Representação esquemática da distribuição padronizada (horizontal e vertical) da mistura de pós para o preenchimento das cápsulas.	74
Figura 3	Curva de distribuição média do tamanho de partículas de OXC matéria-prima.	89
Figura 4	Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima.	91
Figura 5	Curva de termogravimetria de OXC matéria-prima.	92
Figura 6	Espectro de absorção no infravermelho de OXC por reflectância atenuada.	93
Figura 7	Espectro de absorção na região do ultravioleta de solução de OXC em metanol na concentração 50,0 µg/mL, na faixa λ 200 nm a 400 nm	94
Figura 8	Cromatograma obtido para a Solução padrão 50,0 µg/mL [fase móvel ACN:tampão:água (32:12:56)].	95
Figura 9	Cromatograma obtido para a Solução amostra 50,0 µg/mL [fase móvel ACN:tampão:água (32:12:56)].	95
Figura 10	Reação de identificação do grupo funcional cetona para OXC.	96
Figura 11	Espectro de absorção na região UV da solução de OXC em metanol na concentração 50,0 µg/mL, na faixa 200 nm a 400 nm.	100
Figura 12	Espectro de absorção na região UV da solução de CBZ em metanol na concentração 0,25 µg/mL, na faixa 200 nm a 400 nm.	101
Figura 13	Espectro de absorção na região UV da solução de CBZ em metanol na concentração 0,05 µg/mL, na faixa 200nm a 400 nm.	101
Figura 14	Sobreposição dos espectros de absorção na região UV, da solução de OXC na concentração 50,0 µg/mL e da solução de CBZ na concentração 0,25 µg/mL, em metanol, na faixa 200 nm a 400 nm.	101
Figura 15	Curva analítica de OXC e a equação da reta obtida para avaliação da linearidade do método para doseamento de OXC matéria-prima por espectrofotometria de absorção na região UV.	104
Figura 16	Plotagem da distribuição dos resíduos da curva analítica para o doseamento de OXC por espectrofotometria de absorção na região UV.	105
Figura 17	Representação gráfica da sobreposição das curvas de estabilidade das soluções S1, S2 e S3 por um período de 120 minutos.	107
Figura 18	Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de QI <i>et al.</i> (2003) [fase móvel mistura de ACN, tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8) e água (36:8:56); pureza de pico 99,96%; $t_R$ = 3,06 min; fator T = 0,98; N = 6953; detecção 253 nm].	108
Figura 19	Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de Pathare, Jadhav e Shingare (2007) [fase móvel mistura de MeOH, ACN e tampão fosfato de potássio monobásico 0,02 M (20:35:45); pureza de pico 99,92%; $t_R$ = 2,45 min; fator T = 1,12; N = 6033; detecção 253 nm].	108

/continua.

## LISTA DE FIGURAS (continuação)

Figura 20	Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de QI <i>et al.</i> (2003) três dias após preparo [fase móvel mistura de ACN, tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8) e água (36:8:56); pureza de pico 99,95%; $t_R$ = 3,37 min; fator T = 1,00; N = 7492, R = 5,28; detecção 253 nm].	110
Figura 21	Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de QI <i>et al.</i> (2003) cinco dias após preparo [fase móvel mistura de ACN, tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8) e água (36:8:56); pureza de pico 99,97%; $t_R$ = 3,36 min; fator T = 1,00; N = 7620, R = 11,29 e detecção 253 nm].	110
Figura 22	Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de QI <i>et al.</i> (2003) dez dias após preparo [fase móvel mistura de ACN, tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8) e água (36:8:56); pureza de pico 96,52%; $t_R$ = 3,46 min; fator T = 0,99; N = 7420, R = 5,32 e detecção 253 nm].	110
Figura 23	Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de Pathare, Jadhav e Shingare (2007) seis dias após preparo [fase móvel mistura de MeOH, ACN e tampão fosfato de potássio monobásico 0,02 M (20:35:45); pureza de pico 74,95%; $t_R$ = 2,51 min; fator T = 1,10; N = 5886 ; R = 1,94 e detecção 253 nm].	111
Figura 24	Cromatograma de OXC obtido com fase móvel ACN:tampão (36:64) [pureza de pico 89,61%; $t_R$ = 3,20 min; fator T = 1,04; N = 7150; R = 1,84 e detecção 253 nm].	112
Figura 25	Cromatograma de OXC com fase móvel ACN:tampão:água (34:10:56) [pureza de pico 96,64%; $t_R$ = 3,46 min; fator T = 1,00; N = 7343; R = 5,29 e detecção 253 nm].	112
Figura 26	Cromatograma de OXC com fase móvel ACN:tampão:água (32:12:56) [pureza de pico 99,75%; $t_R$ = 4,05 min; fator T = 1,02; N = 7901; R = 6,12 e detecção 253 nm].	113
Figura 27	Curva analítica de OXC e equação da reta obtida para avaliação da linearidade do método para doseamento de OXC matéria-prima por CLAE.	115
Figura 28	Plotagem da distribuição dos resíduos da curva analítica para o doseamento de OXC por CLAE.	116
Figura 29	Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, celulose microcristalina e mistura de OXC + celulose microcristalina (1:1).	122
Figura 30	Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, amido Starcap® e mistura de OXC + amido Starcap® (1:1).	122
Figura 31	Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, talco e mistura de OXC + talco (1:1).	123
Figura 32	Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, dióxido de silício coloidal e mistura de OXC + dióxido de silício coloidal (1:1).	123
Figura 33	Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, estearato de magnésio e mistura de OXC + estearato de magnésio (1:1).	124
Figura 34	Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, lactose e mistura de OXC + lactose (1:1).	124
Figura 35	Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, manitol e mistura de OXC + manitol (1:1).	124
Figura 36	Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, LSS e mistura de OXC + LSS (1:1).	125
Figura 37	Sobreposição dos espectros de absorção na região UV da <i>solução placebo</i> da Formulação 1 (----) e da <i>solução padrão de trabalho de OXC</i> (—), em metanol, na faixa 200 nm a 400 nm.	131

## LISTA DE FIGURAS (conclusão)

Figura 38	Sobreposição dos espectros de absorção na região UV da <i>solução placebo</i> da Formulação 2 (----) e da <i>solução padrão de trabalho de OXC</i> (—), em metanol, na faixa 200 nm a 400 nm.	131
Figura 39	Sobreposição dos espectros de absorção na região UV da <i>solução placebo</i> da Formulação 3 (----) e da <i>solução padrão de trabalho de OXC</i> (—), em metanol, na faixa 200 nm a 400 nm.	131
Figura 40	Perfis de dissolução de cápsulas manipuladas contendo 150 mg de OXC em diferentes meios de dissolução para a Formulação 1.	142
Figura 41	Perfis de dissolução de cápsulas manipuladas contendo 150 mg de OXC em diferentes meios de dissolução para a Formulação 2.	142
Figura 42	Perfis de dissolução de cápsulas manipuladas contendo 150 mg de OXC em diferentes meios de dissolução para a Formulação 3.	142
Figura 43	Perfis de dissolução de cápsulas manipuladas contendo 150 mg de OXC em LSS 0,5% com velocidade de agitação de 75 rpm para as Formulações 1, 2 e 3.	144
Figura 44	Sobreposição dos espectros de absorção na região UV, da <i>solução padrão de trabalho de OXC</i> (—) na concentração 50,0 µg/mL em LSS 0,5% (p/V) (branco LSS 0,5%) e da solução de LSS 0,5% (p/V) (----) na faixa 200 nm a 400 nm.	146
Figura 45	Sobreposição dos espectros de absorção na região UV, da <i>solução padrão de trabalho de OXC</i> (—) na concentração 50,0 µg/mL em LSS 1,0% (p/V) (branco LSS 1,0%) e da solução de LSS 1,0% (p/V) (----) na faixa 200 nm a 400 nm.	146
Figura 46	Sobreposição dos espectros de absorção na região UV, da <i>solução padrão de trabalho de OXC</i> (—) na concentração 50,0 µg/mL em LSS 1,5% (p/V) (branco LSS 1,5%) e da solução de LSS 1,5% (p/V) (----) na faixa 200 nm a 400 nm.	146
Figura 47	Curva analítica de OXC e a equação da reta obtida para avaliação da linearidade do teste de dissolução de OXC em LSS 0,5% por espectrofotometria de absorção na região UV.	150
Figura 48	Curva analítica de OXC e a equação da reta obtida para avaliação da linearidade do teste de dissolução de OXC em LSS 1,0% por espectrofotometria de absorção na região UV.	150

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Condições de análise para a quantificação de OXC por CLAE.	46
Tabela 2	Condições de análise para a medida da distribuição dos diferentes tamanhos de partículas na amostra por meio de difração de raio laser.	53
Tabela 3	Termos descritivos da Farmacopéia Brasileira 4ª edição (1988) para expressar a solubilidade.	54
Tabela 4	Condições analíticas utilizadas nas análises térmicas para OXC por DSC e TG.	55
Tabela 5	Soluções 1 a 9 para a construção da curva analítica de OXC matéria-prima por espectrofotometria no UV.	61
Tabela 6	Condições cromatográficas da literatura para doseamento de OXC matéria-prima por CLAE.	64
Tabela 7	Soluções 1 a 11 para a construção da curva analítica de OXC matéria-prima por CLAE.	66
Tabela 8	Esquema de diluições para avaliação da exatidão do método para doseamento de OXC matéria-prima por CLAE.	67
Tabela 9	Parâmetros do método de doseamento de OXC modificados para a avaliação da robustez do método por CLAE.	69
Tabela 10	Formulações desenvolvidas para cápsulas gelatinosas duras de OXC 150 mg.	71
Tabela 11	Volumes aproximados das cápsulas gelatinosas duras.	73
Tabela 12	Ângulo de repouso como indicação das propriedades de fluxo.	76
Tabela 13	Esquema de diluições para avaliar a exatidão do método para doseamento de OXC cápsulas manipuladas por espectrofotometria no UV.	83
Tabela 14	Soluções 1 a 9 para a construção da curva analítica de OXC em LSS 0,5% e LSS 1,0% (p/V).	88
Tabela 15	Resultados obtidos de distribuição média dos diferentes tamanhos de partículas de OXC.	90
Tabela 16	Solubilidades de OXC em diferentes solventes de acordo com os termos descritivos da Farmacopéia Brasileira 4ª edição, 1988.	91
Tabela 17	Atribuições das principais bandas de absorção de OXC no infravermelho.	93
Tabela 18	Sistemas eluentes testados e valores de Rf obtidos para OXC.	94
Tabela 19	Substâncias testadas, suas estruturas químicas, grupos funcionais e os resultados obtidos da reação com 2,4–dinitrofenilhidrazina.	97
Tabela 20	Porcentagens de perda por dessecação para OXC, em estufa a 105 °C, por 3 horas, em triplicata.	98
Tabela 21	Absorvância das soluções de OXC de 20,0, 50,0 e 90,0 µg/mL, em metanol, nos máximos de absorção (253 nm e 305 nm).	99

/continua.

## LISTA DE TABELAS (continuação)

Tabela 22	Valores de absorvância das soluções de OXC e CBZ, em 305 nm, e porcentagens de interferência das soluções de CBZ de 0,05 e 0,25 µg/mL na absorvância da solução de OXC.	102
Tabela 23	Concentrações das soluções, medidas de absorvância para a construção da curva analítica de OXC matéria-prima e fatores de resposta.	103
Tabela 24	Precisão intra-dia para o método de doseamento de OXC matéria-prima.	105
Tabela 25	Precisão inter-dia para o método de doseamento de OXC matéria-prima.	106
Tabela 26	Resultados das medidas de absorvância das soluções S1, S2 e S3 de OXC para avaliar a robustez em diferentes espectrofotômetros.	107
Tabela 27	Condições cromatográficas selecionadas para o doseamento de OXC matéria-prima.	113
Tabela 28	Concentrações das soluções, áreas e fatores de resposta para a construção da curva analítica de OXC matéria-prima por CLAE	114
Tabela 29	Exatidão do método de quantificação de OXC por CLAE: porcentagens de recuperação em três níveis (75, 100 e 125% da concentração de trabalho), desvio padrão relativo e o intervalo de confiança.	116
Tabela 30	Precisão intra-dia e precisão inter-dia para o doseamento de OXC por CLAE.	117
Tabela 31	Resultados do teor de OXC nas condições testadas para avaliar a robustez do método de doseamento de OXC por CLAE.	118
Tabela 32	Resultados das determinações das densidades, aparente e compactada, de OXC e da mistura de excipientes.	120
Tabela 33	Propriedades de fluxo das formulações desenvolvidas.	121
Tabela 34	Dados de temperatura de fusão onset de OXC e OXC + excipientes por DSC.	126
Tabela 35	Resultados de determinação de peso conforme Farmacopéia Brasileira, 4ª edição (1988).	127
Tabela 36	Resultados de determinação de peso conforme Farmacopéia Britânica 2007.	128
Tabela 37	Resultados de determinação de peso conforme Guia Prático da Farmácia Magistral.	128
Tabela 38	Valores de absorvância das soluções de OXC e dos placebos em 305 nm, e as porcentagens de interferência das soluções dos placebos na resposta de OXC.	130
Tabela 39	Precisão intra-dia e precisão inter-dia para o doseamento de OXC nas cápsulas da Formulação 1 por espectrofotometria de absorção na região UV.	132
Tabela 40	Precisão intra-dia e precisão inter-dia para o doseamento de OXC nas cápsulas da Formulação 2 por espectrofotometria de absorção na região UV.	133
Tabela 41	Precisão intra-dia e precisão inter-dia para o doseamento de OXC nas cápsulas da Formulação 3 por espectrofotometria de absorção na região UV.	133
Tabela 42	Exatidão do método de espectrofotometria de absorção na região UV para a quantificação de OXC em cápsulas da Formulação 1: porcentagens de recuperação em três níveis (80, 100 e 120% da concentração de trabalho) e desvio padrão relativo.	134

## LISTA DE TABELAS (conclusão)

Tabela 43	Exatidão do método de espectrofotometria de absorção na região UV para a quantificação de OXC em cápsulas da Formulação 2: porcentagens de recuperação em três níveis (80, 100 e 120% da concentração de trabalho) e desvio padrão relativo.	135
Tabela 44	Exatidão do método de espectrofotometria de absorção na região UV para a quantificação de OXC em cápsulas da Formulação 3: porcentagens de recuperação em três níveis (80, 100 e 120% da concentração de trabalho) e desvio padrão relativo.	136
Tabela 45	Resultados do doseamento das cápsulas em diferentes partes da encapsuladeira.	137
Tabela 46	Valores de teor em porcentagem de OXC obtidos no teste de uniformidade de conteúdo das cápsulas manipuladas utilizando-se o método de doseamento por espectrofotometria de absorção na região UV para as Formulações 1, 2 e 3.	138
Tabela 47	Valores médios e DP das médias (n = 6) dos perfis de dissolução de cápsulas de OXC para a Formulação 1, variando-se os parâmetros meios de dissolução e velocidades de agitação das cestas a 75 rpm e 100 rpm.	140
Tabela 48	Valores médios e DP das médias (n = 6) dos perfis de dissolução de cápsulas de OXC para a Formulação 2, variando-se os parâmetros meios de dissolução e velocidades de agitação das cestas a 75 rpm e 100 rpm.	141
Tabela 49	Valores médios e DP das médias (n = 6) dos perfis de dissolução de cápsulas de OXC para a Formulação 3, variando-se os parâmetros meios de dissolução e velocidades de agitação das cestas a 75 rpm e 100 rpm.	141
Tabela 50	Valores de absorvância das soluções de OXC e de LSS em 305 nm, e as porcentagens de interferência das soluções de LSS na resposta de OXC.	147
Tabela 51	Concentrações das soluções, medidas de absorvância e FR para a construção da curva analítica de OXC em LSS 0,5%.	148
Tabela 52	Concentrações das soluções, medidas de absorvância e FR para a construção da curva analítica de OXC em LSS 1,0%.	149

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ACN	Acetonitrila
ANOVA	Análise de variância
Anvisa	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BIT	Baixo índice terapêutico
BPM	Boas Práticas de Manipulação
CAS	Chemical Abstracts Substance
CBZ	Carbamazepina
CCD	Cromatografia em camada delgada
CG	Cromatografia gasosa
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DAD	Detector de arranjo de diodos
DCB	Denominação Comum Brasileira
DHD	Derivado dihidroxilado
DOU	Diário Oficial da União
DP	Desvio padrão
DPR	Desvio padrão relativo
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
EPI	Equipamento de proteção individual
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
ICH	International Conference on Harmonization
ILAE	International League Against Epilepsy
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LSS	Lauril sulfato de sódio
MeOH	Metanol
MHD	Derivado 10-monohidroxi
N	Número de pratos teóricos
nm	Nanômetro
OXC	Oxcarbazepina

/continua

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS (conclusão)

pH	Potencial hidrogeniônico
p/p	Peso por peso
ppm	Parte(s) por milhão
p/V	Peso por volume
r	Coefficiente de correlação
RE	Resolução Específica
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
R <sub>f</sub>	Fator de retenção
FR	Fase reversa
rpm	Rotações por minuto
T	Fator de cauda
TG	Termogravimetria
t <sub>R</sub>	Tempo de retenção
Visa	Vigilância Sanitária Estadual
USP	United States Pharmacopeia
UV	Ultravioleta
WHO	Organização Mundial de Saúde
λ	Comprimento de onda

## SÚMARIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>29</b>
<b>2.1 Epilepsia</b> .....	<b>29</b>
<b>2.1.1 Crises parciais (crises focais)</b> .....	<b>32</b>
<b>2.1.2 Crises generalizadas</b> .....	<b>32</b>
<b>2.2 Tratamento</b> .....	<b>33</b>
<b>2.2.1 Aspectos gerais</b> .....	<b>33</b>
<b>2.2.2 Fármacos antiepilépticos</b> .....	<b>34</b>
<b>2.3 Oxcarbazepina</b> .....	<b>36</b>
<b>2.3.1 Propriedades farmacocinéticas</b> .....	<b>36</b>
<b>2.3.2 Propriedades farmacodinâmicas</b> .....	<b>38</b>
<b>2.3.3 Reações adversas e interações farmacológicas</b> .....	<b>38</b>
<b>2.3.4 Eficácia e Indicações</b> .....	<b>39</b>
<b>2.3.5 Uso clínico e posologia</b> .....	<b>39</b>
<b>2.3.6 Medicamentos disponíveis no mercado</b> .....	<b>40</b>
<b>2.3.7 Características químicas e físico-químicas</b> .....	<b>40</b>
<b>2.4 Determinação de OXC por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)</b> 41	
<b>2.5 Impurezas de OXC</b> .....	<b>42</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>49</b>
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	<b>49</b>
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	<b>49</b>
<b>4 MATERIAL</b> .....	<b>50</b>
<b>4.1 Equipamentos</b> .....	<b>50</b>
<b>4.2 Materiais</b> .....	<b>51</b>
<b>4.3 Reagentes</b> .....	<b>51</b>
<b>4.4 Matérias-primas e excipientes</b> .....	<b>52</b>
<b>5 MÉTODOS</b> .....	<b>53</b>
<b>5.1 Controle de qualidade de OXC matéria-prima</b> .....	<b>53</b>
<b>5.1.1 Descrição</b> .....	<b>53</b>
<b>5.1.2 Identificação</b> .....	<b>55</b>
<b>5.1.3 Ensaio de pureza</b> .....	<b>58</b>
<b>5.1.4 Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de OXC por espectrofotometria na região UV</b> .....	<b>59</b>

5.1.5 Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE para quantificação de OXC .....	63
5.2 Desenvolvimento farmacotécnico de formulações magistrais para cápsulas gelatinosas duras de OXC.....	70
5.2.1 Formulações propostas .....	70
5.2.5 Preparo padronizado das formulações (manipulação por nivelamento)...	71
5.2.6 Preparo das cápsulas .....	73
5.2.7 Densidades aparente e compactada.....	75
5.2.8 Fluidez dos pós das formulações .....	76
5.3 Análise de OXC e excipientes por calorimetria exploratória diferencial .....	77
5.4 Controle de qualidade das cápsulas de OXC .....	77
5.4.1 Reação de identificação .....	77
5.4.2 Teste de desintegração .....	78
5.4.3 Determinação de peso.....	78
5.4.4 Quantificação de OXC em cápsulas manipuladas por espectrofotometria na região UV .....	80
5.4.5 Validação de método analítico por espectrofotometria no UV para quantificação de OXC em cápsulas manipuladas .....	81
5.5 Teste de dissolução.....	85
5.5.1 Condições de esgotamento ( <i>sink conditions</i> ).....	85
5.5.2 Perfis de dissolução de cápsulas de OXC .....	86
5.5.3 Validação do método de dissolução.....	87
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	89
6.1 Controle de qualidade de OXC matéria-prima .....	89
6.1.1 Descrição .....	89
6.1.2 Identificação .....	91
6.1.3 Ensaio de pureza.....	97
6.1.4 Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de OXC por espectrofotometria na região UV.....	99
6.1.5 Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE para quantificação de OXC .....	108
6.2 Desenvolvimento farmacotécnico de formulações magistrais para cápsulas gelatinosas duras de OXC.....	119
6.2.1 Características do fármaco .....	119

6.2.2 Densidades aparente e compactada.....	120
6.2.3 Fluidez dos pós das formulações .....	120
6.3 Análise de OXC e excipientes por calorimetria exploratória diferencial ....	121
6.4 Controle de qualidade das cápsulas de OXC .....	126
6.4.1 Reação de identificação .....	126
6.4.2 Teste de desintegração .....	126
6.4.3 Determinação de peso.....	127
6.4.4 Validação de método analítico por espectrofotometria no UV para quantificação de OXC em cápsulas manipuladas .....	130
6.4.5 Doseamento realizado em diferentes partes da encapsuladeira.....	136
6.4.6 Uniformidade de doses unitárias por uniformidade de conteúdo.....	137
6.5 Teste de dissolução .....	138
6.5.1 Condições de esgotamento ( <i>sink conditions</i> ) .....	138
6.5.2 Perfis de dissolução de cápsulas de OXC .....	139
6.5.3 Validação do método de dissolução.....	145
7 CONCLUSÃO .....	152

## 1 INTRODUÇÃO

Os farmacêuticos são os profissionais de saúde que possuem o conhecimento e a habilidade imprescindíveis para manipular e preparar medicamentos a fim de atender às necessidades dos pacientes (GENNARO, 2004). Como profissional de saúde, deve assegurar que os medicamentos, industrializados ou manipulados, tenham qualidade, eficácia e segurança de forma a atender às necessidades dos pacientes e às expectativas médicas.

Historicamente, a manipulação farmacêutica constitui uma prática importante do âmbito farmacêutico, sendo prevista no exercício da profissão, conforme estabelece o Decreto nº 85.878 de 07 de abril de 1981 (BRASIL, 1981). Ainda hoje, dentre as atividades do estabelecimento intitulado “farmácia” uma das mais importantes é o preparo de medicamentos a partir de fármacos amplamente utilizados.

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) define “farmácia” como todo estabelecimento de manipulação de fórmulas magistrais e oficinais, de comércio de fármaco e drogas vegetais, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, compreendendo o exercício de dispensação e o atendimento privativo de unidade hospitalar ou de qualquer outra equivalente de assistência médica. Por outro lado, a manipulação é definida como um conjunto de operações com a finalidade de elaborar preparações farmacêuticas, bem como fracionar produtos industrializados para uso humano (BRASIL, 2000).

As preparações magistrais são aquelas que atendem a uma prescrição médica específica que estabelece: a fórmula, a forma farmacêutica, a posologia e o modo de usar. Por sua vez, as preparações oficinais são aquelas que atendem à prescrição de uma fórmula existente na Farmacopéia Brasileira ou no Formulário Nacional (BRASIL, 2000).

A farmácia do século XX passou por diversas transformações, quando comparada à farmácia dos séculos XVIII e XIX. No início do século XX, a farmácia afastou-se das atividades de manipulação realizadas nas chamadas boticas, com considerável perda de importância das atividades tradicionais do farmacêutico. Esse

distanciamento agravou-se após a Segunda Guerra Mundial quando então a *arte de manipular* deu lugar aos medicamentos industrializados e a indústria farmacêutica assumiu a produção da maioria dos medicamentos prescritos pelos médicos (GENNARO, 2004). A manipulação tornou-se uma atividade residual na farmácia, ficando basicamente restrita às farmácias hospitalares. Assumiu, portanto, características de estabelecimento comercial, deixando de lado a capacidade do farmacêutico na prática da manipulação em detrimento dos medicamentos industrializados.

Esse fato prejudica seriamente a principal ação do ato farmacêutico em sua relação com a sociedade sendo esse um dos mais importantes papéis desse profissional, sobretudo em países onde o acesso à medicina é obstruído pela ineficiência do poder público em manter ativas as ações públicas de saúde.

O retorno às ações sanitárias privativas do farmacêutico aconteceu nas últimas duas décadas do século XX sendo que a retomada da manipulação alopática e homeopática é fator determinante na atual situação da prestação desse serviço de saúde. O farmacêutico retoma seu espaço na atividade de manipulação desenvolvendo sua habilidade de manipular, segundo *sua arte* aprendida no âmbito acadêmico. Os farmacêuticos que manipulam medicamentos constroem uma relação única e especial com os pacientes e podem trabalhar conjuntamente com os médicos para formular e dispensar formas farmacêuticas não disponíveis no comércio (GENNARO, 2004).

Devido ao expressivo crescimento das farmácias magistrais em todo o território nacional, as autoridades sanitárias com o intuito de regulamentar o setor, passaram a exigir das farmácias o cumprimento das “Boas Práticas”, que já estavam sendo seguidas no setor industrial. Em 19 de abril de 2000, a Anvisa aprovou a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 33, que entrou em vigor na data de sua publicação no Diário Oficial da União (DOU) em 24 de abril de 2000. A Resolução regulamentou as Boas Práticas de Manipulação (BPM) de Medicamentos em Farmácias, bem como as BPM de Produtos Estéreis e as BPM de Preparações Homeopáticas. Em um de seus anexos, apresenta-se um roteiro de inspeção para as farmácias (BRASIL, 2000). A Anvisa por meio da publicação da Resolução RDC

nº 33 iniciou a regulamentação do setor das farmácias magistrais, estabelecendo parâmetros mínimos para a atuação desses estabelecimentos farmacêuticos para a manipulação, fracionamento, conservação, transporte de preparações magistrais e oficiais, alopáticas e/ou homeopáticas e de outros produtos de interesse da saúde.

Em setembro de 2002, a Anvisa notificou o óbito de uma criança (doze anos) em Brasília (Distrito Federal), após ter feito uso de cápsulas manipuladas de hormônio do crescimento. Os medicamentos foram encaminhados para análise no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS) da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) (BRASIL, 2002b). As análises demonstraram se tratar do fármaco clonidina associado ao hormônio estimulador do crescimento e o Laboratório Central concluiu que houve falha na manipulação de clonidina, que foi prescrito por médicos do Distrito Federal associado ao hormônio estimulador do crescimento. O laudo apresentado pelo INCQS apontou um teor de clonidina cem vezes maior do que o presente no rótulo do produto (BRASIL, 2002a). As especialidades contendo clonidina são autorizadas pela Anvisa com indicação terapêutica apenas para o tratamento da hipertensão arterial e não como substância promotora do crescimento. Esse fato levou, inicialmente, à proibição da clonidina manipulada em Brasília e como ação preventiva, a Anvisa suspendeu a manipulação imediata de clonidina em todo o país. Após essa conduta da Agência, diversos outros casos de reações adversas foram relatados no país, somando mais de cinquenta, sendo que quarenta e nove casos envolviam crianças que utilizaram a clonidina em associação com o hormônio do crescimento. Desses cinquenta casos, três pacientes foram hospitalizados e um deles veio a falecer, o caso da criança de doze anos (BRASIL, 2002a; BRASIL, 2003b).

Considerando o risco no uso de fármacos de baixo índice terapêutico (BIT) manipulados, como a clonidina, a Anvisa decidiu suspender em todo o país a manipulação desses fármacos publicando a Resolução (RE) nº 1621, de 3 de outubro de 2003. Essa Resolução foi revogada pela RE 1638, de 8 de outubro de 2003, que suspendeu a manipulação de vários fármacos de BIT, seus sais e derivados, bem como retirou da lista a isotretinoína e continuou permitindo a manipulação apenas de formas farmacêuticas líquidas em solução para uso oral e apresentações para uso tópico dos fármacos de BIT (BRASIL, 2003b,d).

Em 22 de dezembro de 2003, foi publicada no DOU a Resolução RDC nº 354, de 18 de dezembro de 2003. Essa Resolução estabeleceu as condições mínimas para a manipulação de medicamentos contendo fármacos de BIT de baixa dosagem e alta potência e fármacos de BIT de alta dosagem e baixa potência em todas as suas formas farmacêuticas de uso interno. Na Resolução determina-se que nas farmácias onde se manipulam fármacos de BIT devem-se seguir critérios para a aquisição, recebimento, armazenamento e pesagem para diluição de matéria-prima; diluição, homogeneização, armazenamento do diluído, encapsulamento, envase, rotulagem e dispensação, visando tornar a manipulação destas substâncias mais segura (BRASIL, 2003a).

De acordo com a Resolução RDC nº 354, os fármacos de BIT devem ser adquiridos de fornecedores qualificados, devem ter identificações especiais no rótulo e serem armazenadas em local de acesso restrito, de modo a garantir a manutenção de sua integridade física e química. A pesagem deve ser realizada em duplicata e registrada, sendo uma delas verificada pelo farmacêutico. A diluição e a homogeneização devem ser realizadas de acordo com o método de diluição geométrica e o diluído pode ser armazenado, desde que seja feito o monitoramento trimestral do teor do fármaco. Também, deve ser realizado o peso médio das cápsulas e utilizar a cápsula com o menor tamanho possível (menor volume interno) de acordo com a dose. O farmacêutico ao dispensar o medicamento deve prestar assistência ao paciente, avaliando-o e monitorando-o quanto ao uso correto e aparecimento de eventos não desejáveis (BRASIL, 2003a).

Em 17 de agosto de 2005, a Resolução RDC nº 232, incluiu o fármaco colchicina na Resolução RDC nº 354, que passou a partir dessa data a ser manipulado apenas pelas farmácias capazes de lidar com fármacos de BIT (BRASIL, 2005b).

Conforme a Resolução RDC nº 354 da Anvisa, os fármacos clonidina, digoxina, minoxidil, prazosina e varfarina foram definidos como fármacos de BIT, baixa dosagem e alta potência. Os fármacos ácido valpróico, aminofilina, carbamazepina, lítio, ciclosporina, clindamicina, clozapina, disopiramida, fenitoína, oxcarbazepina, primidona, procainamida, quinidina, teofilina e verapamil foram definidos como fármacos de BIT, alta dosagem e baixa potência (BRASIL, 2003a).

Os fármacos de BIT que estão sob o rigor da Resolução RDC nº 354 e seu principal uso terapêutico (GOODMAN e GILMAN, 2003; KOROLKOVAS, 2006; BRASIL, 2003a), são citados alfabeticamente abaixo:

Ácido valpróico (anticonvulsivante), aminofilina (broncodilatador), ciclosporina (imunossupressor), clindamicina (antibacteriano), clonidina (anti-hipertensivo), clozapina (antipsicótico), colchicina (antigotoso), digoxina (antiarrítmico e cardiotônico), disopiramida (antiarrítmico), fenitoína (anticonvulsivante), lítio (antidepressivo e antimaníaco), minoxidil (anti-hipertensivo e vasodilatador periférico), oxcarbazepina (anticonvulsivante), prazosina (anti-hipertensivo), primidona (anticonvulsivante), procainamida (antiarrítmico), quinidina (antiarrítmico), teofilina (broncodilatador), varfarina (anticoagulante), cloridrato de verapamil (antianginoso e antiarrítmico).

De acordo com a Anvisa em 2005, a colchicina foi apontada como suspeita em casos de morte em São Gabriel (Rio Grande do Sul). Em 12 de agosto de 2005, a Anvisa notificou três mortes por intoxicação, sendo que os indícios apontam o erro de pesagem como o principal motivo dos óbitos. Em abril de 2005, morreu um casal do Distrito Federal depois de ingerir uma preparação manipulada em que o teor de colchicina era cerca de cinquenta e nove vezes maior que a dose recomendada na prescrição médica (BRASIL, 2005c).

De acordo com a Anvisa, no período de 30 de maio a 22 de junho de 2005, em conjunto com a Vigilância Sanitária (Visa) de São Paulo, foi realizada inspeção em 73 farmácias magistrais localizadas nos municípios de São Paulo (53), Ribeirão Preto (10) e Campinas (10). As farmácias foram fiscalizadas em relação aos fármacos de BIT, ao risco na manipulação dessas substâncias e ao cumprimento dos requisitos das Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos em Farmácias estabelecidos na Resolução RDC nº 33/00 (BRASIL, 2005a).

Das 73 farmácias inspecionadas pela Visa local, 32% manipulavam fármacos de BIT. Dentre as farmácias que manipulavam esses fármacos, 26% não faziam nenhuma análise de controle de qualidade da matéria-prima e 21% não realizavam nenhuma das análises preconizadas pela Resolução RDC 33/00. Também,

constatou-se que 90% das farmácias não qualificavam seus fornecedores e, dentre as farmácias que não faziam análises de controle de qualidade, algumas não possuíam nem mesmo os equipamentos necessários e local apropriado. E outras apenas copiavam os resultados do laudo emitido pelo fornecedor. Constatou-se ainda que 59% das farmácias não apresentaram comprovação de treinamentos de técnicos e funcionários, sendo que em muitas delas os técnicos não estavam capacitados para realizar suas funções. A Anvisa verificou que 53% das farmácias realizavam adequadamente o controle de qualidade. Como resultado da fiscalização dezoito estabelecimentos situados na região da grande São Paulo, Ribeirão Preto e Campinas tiveram a autorização de manipulação suspensa devido ao grande número de irregularidades (BRASIL, 2005a).

Nesse mesmo ano de 2005 foi publicada a Resolução SS 17, de 2 de março de 2005, da Secretaria de Saúde de São Paulo, regulamentando a manipulação de produtos farmacêuticos em farmácias no Estado de São Paulo.

Em 18 de abril de 2005, a Anvisa publicou a Consulta Pública (CP) nº 31 no DOU, com o objetivo de redefinir novas regras para as farmácias magistrais e substituir a Resolução RDC nº 33/00. A CP nº 31 gerou polêmica envolvendo o conflito entre interesses das indústrias versus os interesses das farmácias magistrais (BRASIL, 2005d). Em 12 de dezembro de 2006 foi publicada a Resolução RDC nº 214, que dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em Farmácias, revogando a RDC nº 33 e a RDC nº 354 (BRASIL, 2006). Em 8 de outubro de 2007, foi publicada a Resolução RDC nº 67 que revogou a RDC nº 214, propondo alterações ao texto e ao conteúdo da norma.

De acordo com a Resolução RDC nº 67/07, que dispõe sobre BPM de Preparações Magistrais e Oficiais para uso Humano em Farmácias, as atividades desenvolvidas, relacionadas com a natureza dos insumos manipulados, foram divididas em seis grupos distintos e para cada grupo foram detalhadas as disposições legais, presentes em oito anexos. Dentre os grupos podemos destacar os fármacos de BIT; os antibióticos, os hormônios citostáticos, os antiretrovirais e as substâncias sujeitas a controle especial; os produtos estéreis, etc.. Novas regras foram estabelecidas para o controle de qualidade magistral, devendo a farmácia realizar análise de teor

de pelo menos um diluído preparado trimestralmente, amostrados em três pontos do diluído e analisados separadamente. Devem ser realizadas análises de teor e uniformidade de conteúdo para formas farmacêuticas contendo fármaco em quantidade inferior a vinte e cinco miligramas, dando prioridade àquelas que contenham fármacos em quantidade igual ou inferior a cinco miligramas (BRASIL, 2007).

A Resolução RDC nº 67/07 abrangeu todas as etapas de produção magistral, exigindo das farmácias adequação a uma rotina de monitoramento constante da qualidade dos medicamentos manipulados. Diante das exigências feitas pela Anvisa espera-se que erros de manipulação sejam minimizados, principalmente em relação aos erros no processo que estão diretamente relacionados à falta de treinamento de funcionários e de padronização do processo magistral (BRASIL, 2007).

A manipulação de fármacos de BIT e fármacos sujeitos ao controle especial requer o cumprimento dos requisitos dispostos pela Resolução RDC nº 67/07, anexos I e II e anexos I e III, respectivamente (BRASIL, 2007). Portanto, torna-se necessário estudo apropriado das condições técnicas e do processo de manipulação desses fármacos críticos, de modo a minimizar os erros de manipulação (erros de pesagem e homogeneização do fármaco e de distribuição do pó na encapsuladeira manual) e, também, visando à padronização de uma formulação magistral (excipientes adequados) capaz de cumprir com os requisitos de qualidade, segurança e eficácia terapêutica.

A manipulação deve ser acompanhada e realizada por profissional capacitado, aumentando a confiabilidade no trabalho executado. O farmacêutico deve estabelecer procedimentos para a realização do controle de qualidade das preparações manipuladas, adequando a farmácia para a execução dos testes viáveis a serem realizados pela própria equipe da farmácia e deve programar aqueles que serão terceirizados.

Por último, em 1 de dezembro de 2008 foi publicada a RDC 87 que alterou algumas exigências da RDC 67/07, entre as quais destacam-se: a retirada da obrigatoriedade

da análise de diluídos; prorroga o prazo para a implantação das cabines de manipulação e autorização para o farmacêutico responsável prescrever e indicar produtos manipulados que não exijam prescrição médica.

As farmácias magistrais são capazes de realizar os testes de controle de qualidade como: solubilidade, características organolépticas, pH, ponto de fusão, identificação, doseamento por titulação, determinação de peso, cor de líquidos, viscosidade, densidade, perda por dessecação e ensaios-limite. Esses testes são de fácil execução e não necessitam de equipamentos complexos e caros. Entretanto, testes como doseamento e uniformidade de doses unitárias por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) ou cromatografia gasosa (CG), substâncias relacionadas, teste de dissolução e cinzas sulfatadas necessitam de equipamentos, reagentes e substâncias químicas de referência que possuem alto custo, além de mão-de-obra especializada e, por isso, podem ser terceirizados.

As substâncias químicas quando utilizadas como fármacos no preparo de medicamentos, devem possuir eficácia terapêutica e ser seguras nas doses prescritas. Entretanto, todos os fármacos têm potencial para causar efeitos tóxicos, principalmente os fármacos cuja dose terapêutica (que produz o efeito desejado) está próxima da dose tóxica (que causa efeitos indesejáveis), ou seja, os fármacos de BIT.

Oxcarbazepina é um fármaco de baixo índice terapêutico (BRASIL, 2003a), cuja manipulação é permitida em farmácias, desde que o medicamento produzido atenda aos padrões de segurança, eficácia e qualidade. A adequação de doses individuais é uma prática médica comum que extrapola as diversas doses produzidas industrialmente.

A inexistência de monografias farmacopéicas em todos os compêndios oficiais para avaliar a qualidade de oxcarbazepina prejudica as ações de vigilância sanitária e o controle de qualidade das matérias-primas e dos produtos acabados. Paralelamente, a ausência de um procedimento operacional padrão implica em pouca ou nenhuma reprodutibilidade dos medicamentos formulados nas farmácias magistrais.

O risco sanitário é maior quanto menos rigorosos forem os critérios para garantir a qualidade de qualquer produto, o que se aplica principalmente aos medicamentos por ser objeto da qualidade de vida do ser humano. A realização de ensaios farmacopéicos e o estabelecimento de uma formulação padrão para fármacos críticos podem minimizar o risco, uma vez que parâmetros de análises devem ser cumpridos.

O comprometimento na qualidade dos medicamentos pode ser advindo dos insumos que compõem a formulação, mas tem-se observado como agravante, a falta de procedimentos e processos bem delineados e validados para que os produtos manipulados sejam confiáveis.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 Epilepsia**

A epilepsia é uma desordem neurológica que afeta pessoas do mundo inteiro (WHO, 2001a). Constitui um termo, geralmente, aplicado a uma condição crônica compreendendo um grupo de doenças que em comum manifestam crises epiléticas (convulsões) recorrentes, sendo definida por duas ou mais crises não provocadas, ou seja, na ausência de doença tóxico-metabólica ou febril (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996).

Apesar do diagnóstico de epilepsia exigir a ocorrência de crises convulsivas, nem todas as convulsões implicam em epilepsia. As convulsões representam um sinal relativamente comum de disfunção cerebral e podem ocorrer durante a evolução de muitas doenças gerais ou neurológicas na qual a função cerebral está temporariamente perturbada (CECIL, PLUM e BENETT, 1997).

As crises epiléticas são sintomas comuns de doenças neurológicas agudas (como, por exemplo, meningoencefalite, trauma cranioencefálico, doenças cerebrovasculares) ou doenças clínicas (tais como anóxia, estado hipoglicêmico não cetótico,

insuficiência renal e hepática) (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996). As convulsões, também, podem ocorrer como reação do cérebro ao estresse fisiológico, à privação do sono, à febre e à abstinência de álcool ou de agentes sedativos. E, eventualmente, podem ocorrer convulsões isoladas, sem qualquer motivo evidente, como eventos não provocados em pessoas presumivelmente saudáveis (CECIL, PLUM e BENETT, 1997).

Crises epilépticas são eventos clínicos que refletem disfunção temporária de uma parte do cérebro (crises focais) ou de uma área mais extensa envolvendo os dois hemisférios cerebrais (crises generalizadas) (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996). As crises epilépticas são resultantes de descarga elétrica anormal excessiva de células nervosas (neurônios). As manifestações clínicas são variadas e dependem das partes do cérebro em que se iniciou a disfunção e qual será sua extensão. Sintomas transitórios podem ocorrer como a perda da consciência e distúrbios de movimento, sensações (visão, audição e paladar), humor e funções mentais (WHO, 2001b).

A epilepsia pode ocorrer tanto em homens quanto em mulheres, iniciando-se em qualquer idade. Entretanto, a faixa etária mais acometida é primeiramente a infantil (abaixo de dois anos) e, em segundo lugar, os idosos com mais de 65 anos. Muitos estudos demonstram que há discreto predomínio nos homens (1,1 a 1,7 vezes) em relação às mulheres (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996). De fato, mais de 5% da população mundial pode ter uma crise simples em algum momento de sua vida, mas o diagnóstico de epilepsia é reservado àquelas pessoas que têm crises recorrentes (WHO, 2001b).

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (WHO), em 1990 foi calculado o impacto econômico global das doenças e a epilepsia foi responsável por 1% dos dias perdidos com doenças em todo o mundo. A epilepsia, comumente, afeta pessoas jovens na faixa etária mais produtiva de suas vidas, freqüentemente, resultando em desemprego, o que poderia ser evitado com o tratamento adequado (WHO, 2001b).

A prevalência de uma desordem define-se pelo número de casos de doenças ou pessoas doentes existentes ou surgindo em uma população sem distinção entre os casos novos e antigos (MANUILA *et al.*, 2003). Alguns estudos têm estimado a prevalência de epilepsia ativa (crises contínuas ou com necessidade de tratamento), e verificou-se que ocorrem, aproximadamente, 8,2 casos em cada 1000 pessoas da população em geral. Entretanto, esta pode ser uma subestimativa da verdadeira prevalência, como é demonstrado em estudos realizados em países em desenvolvimento (tais como Colômbia, Equador, Índia, Libéria, Nigéria, Panamá, República Unida da Tanzânia e Venezuela), onde a prevalência é maior que 10 casos para cada 1000 pessoas da população em geral (WHO, 2001b).

A incidência de uma desordem define-se pelo número de casos novos de uma doença durante um dado período de tempo e em uma determinada população (MANUILA *et al.*, 2003). Estudos realizados em países desenvolvidos apresentam uma incidência anual de epilepsia de aproximadamente 50 casos por 100000 pessoas, em relação à população geral. Entretanto, estudos em países em desenvolvimento sugerem que a incidência seja maior que 100 casos por 100000 pessoas, em relação à população em geral (WHO, 2001b).

No Brasil, há poucos estudos sobre a prevalência de epilepsia e até o ano de 2005 não havia estudos publicados sobre a incidência. Almeida Filho estudou a população do bairro Amarantina (Salvador, Bahia) que, na época contava com 27 mil habitantes, e encontrou taxa de prevalência de epilepsia ativa de 0,1%, surpreendentemente baixa para padrões latino-americanos. Marino Jr *et al.* encontraram uma taxa de prevalência de epilepsia de 1,19% na grande São Paulo. (NETO e MARCHETTI, 2005).

O diagnóstico das crises epiléticas depende da descrição minuciosa das crises pelo paciente, por um parente ou uma testemunha. O médico deve obter informações precisas como fatores precipitantes, ocorrência de aviso, área do corpo inicialmente afetada, progressão da atividade e sua evolução, duração da crise e momento de ocorrência no dia. O diagnóstico de epilepsia é basicamente clínico-presuntivo, ou seja, baseado na descrição fenomenológica dos episódios. A omissão de dados pode levar ao erro no diagnóstico (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996).

As convulsões epilépticas são classificadas por suas manifestações clínicas, suplementadas por eletroencefalografia. Existem muitos tipos diferentes de convulsões, cada um com mudanças comportamentais e alterações eletrofisiológicas típicas que podem ser, geralmente, detectadas pelo registro do eletroencefalograma. Os esquemas de classificação para descrever as convulsões e os vários tipos de epilepsia mais usados são os da International League Against Epilepsy (ILAE). As crises são basicamente classificadas em (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996):

### **2.1.1 Crises parciais (crises focais)**

*Convulsões parciais simples.* As convulsões parciais simples resultam quando a descarga inicial ocorre em uma área circunscrita do córtex cerebral e permanece limitada a esta. Os fenômenos sensoriais subjetivos e psicoilusionais são denominados “auras” e afetam cerca de 60% dos pacientes com epilepsia focal. As convulsões parciais simples com sinais motores começam com movimentos clônicos (abalos rítmicos) ou tônicos (rigidez) de partes do corpo, envolvendo, freqüentemente, músculos da face e das mãos (CECIL, PLUM e BENETT, 1997).

*Convulsões parciais complexas.* Típica de origem do lobo temporal; compromete o nível de consciência e provoca automatismos (movimentos repetitivos e sem finalidade). As convulsões parciais duram de 45 a 90 segundos e são seguidas por um período de confusão e desorientação (CECIL, PLUM e BENETT, 1997).

*Secundariamente generalizadas.* Crises convulsivas parciais simples e complexas evoluindo secundariamente para convulsões tônico-clônicas generalizadas (CECIL, PLUM e BENETT, 1997).

### **2.1.2 Crises generalizadas**

*Crises tônico-clônicas generalizadas (convulsões do tipo grande mal):* caracterizadas pela súbita perda da consciência com fase tônica e fase clônica.

*Crises de ausências (pequeno mal):* caracterizadas por súbitos e momentâneos lapsos de vigília, olhar fixo, pestanejamento rítmico e abalos clônicos dos braços e das mãos. A maioria das crises dura menos de 10 segundos.

*Crises de ausências atípicas:* manifestam por lapsos de consciência que tenham início gradual, rápido e que são acompanhados por sintomas autônomos ou perda do tônus muscular. Ocorrem com maior frequência em crianças com retardo mental e que não respondem bem ao tratamento com agentes antiepilépticos.

*Crises mioclônicas:* manifestam por abalos musculares e sem perda da consciência.

*Crises atônicas:* ocorrem comumente em crianças com encefalopatia difusa e são caracterizadas por perda súbita do tônus muscular que podem resultar em quedas com traumatismos.

A epilepsia é considerada, já há alguns anos, não como uma doença ou moléstia específica, mas apenas como uma síndrome, ou seja, um conjunto de sintomas e sinais ligados entre si fisiopatologicamente, porém, com etiologia, quadro clínico, tratamento e prognósticos diferentes (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996).

## **2.2 Tratamento**

### **2.2.1 Aspectos gerais**

O tratamento da epilepsia tem três principais objetivos: eliminar as convulsões ou reduzir sua frequência o máximo possível; evitar os efeitos adversos fármaco-relacionados; ajudar o paciente na manutenção ou na restauração profissional normal e no ajustamento psicossocial. Embora cada um desses alvos seja possível, nenhum tratamento clínico atualmente disponível consegue eliminar (“curar”) de modo permanente a epilepsia (CECIL, PLUM e BENETT, 1997).

O tratamento medicamentoso das epilepsias é, em última análise, aceito como tratamento sintomático, isto é, visa primariamente o controle das crises epiléticas. A seleção dos fármacos antiepiléticos é baseada, primariamente, na sua eficácia para tipos específicos de crises e epilepsias. Outros aspectos que devem ser levados em conta são: a relação risco-benefício (agudos e crônicos), as formulações, via de administração, propriedades farmacológicas, interações entre fármacos e custo (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996).

Antes de se iniciar o tratamento com fármacos antiepiléticos, é fundamental o diagnóstico preciso do tipo de crise apresentada de modo que permita a escolha do medicamento apropriado. Também é importante realizar o diagnóstico sindrômico que permite estabelecer o prognóstico (apreciação do grau de gravidade e da evolução de uma doença) para o paciente (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996).

Os pacientes epiléticos, provavelmente, constituem o grupo de indivíduos que tomam medicamentos por mais tempo na vida, podendo o tratamento durar 20, 30 ou mais anos. O sucesso do tratamento deve ser avaliado não apenas pela redução do número de crises, mas pela melhoria da qualidade de vida (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996).

### **2.2.2 Fármacos antiepiléticos**

A primeira substância eficaz para o tratamento da epilepsia foi o brometo, introduzido em 1857, tornando-se amplamente utilizado na Europa e nos Estados Unidos (WHO, 2001b). A introdução do fenobarbital (1912) e da fenitoína (1938), fármacos usados como antiepiléticos de primeira linha até hoje, produziu grande impacto no controle das crises epiléticas. A trimetadiona, considerada a primeira droga específica para um tipo de epilepsia (pequeno mal), foi introduzida em 1946, tendo sido abandonada após a descoberta das succinimidas na década de 1950. Nessa mesma época descobriu-se o efeito anticonvulsivante das acetiluréias que também foram, posteriormente, abandonadas devido à alta toxicidade (ROCHA *et al.*, 1998).

Os fármacos introduzidos após 1960 (carbamazepina, ácido valpróico e benzodiazepinas) são estruturalmente diferentes, bem como os antiepilépticos introduzidos desde 1990, como vigabatrina, lamotrigina, gabapentina, topiramato, tiagabina, felbamato, oxcarbazepina e zonisamida. Esses novos fármacos mostraram-se diferentes entre si e, também, em relação aos fármacos antiepilépticos tradicionais, exibindo vantagens em termo de eficácia e tolerância, com farmacocinética simples e menos interações farmacológicas (ROCHA *et al.*, 1998; VADJA, 2000)

Os fármacos antiepilépticos agem, geralmente, reduzindo a hiperexcitabilidade neuronal ou impedindo a hiperexcitabilidade focal para outros neurônios normais, sendo mais comum o segundo mecanismo. Os principais alvos de ação desses fármacos são os receptores de alguns neurotransmissores ou canais iônicos, levando a uma variedade de efeitos neurofisiológicos, entre os quais se incluem alterações nos canais de sódio, cálcio e potássio; redução da potenciação pós-tetânica; potenciação da inibição pré e pós-sináptica e redução de várias respostas evocadas (ROCHA *et al.*, 1998).

O tratamento deve ser iniciado com um único agente (monoterapia) escolhido de acordo com o tipo de convulsão do paciente, considerando-se os efeitos adversos, o esquema posológico necessário e o custo. Com exceção do fenobarbital e da fenitoína, os fármacos antiepilépticos devem ser iniciados com doses baixas, a fim de minimizar os efeitos tóxicos agudos, e depois aumentadas para um esquema de manutenção de acordo com a tolerância do paciente e a farmacocinética do agente. Os efeitos colaterais mais comuns são temporários e minimizados com o aumento gradual das doses (CECIL, PLUM e BENETT, 1997).

Com os fármacos hoje existentes, raramente, precisa-se da associação de dois medicamentos. Associações medicamentosas em uma mesma fórmula devem ser proscritas (banidas), pois impedem alterar a dose dos componentes isoladamente e existe a possibilidade de imprevisíveis interações entre fármacos (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996).

As faixas terapêuticas indicadas pelos laboratórios devem ser consideradas apenas como guia, tendo-se em vista a grande variabilidade do comportamento farmacocinético dos fármacos antiepilépticos em diferentes pacientes. Alguns pacientes não tolerarão nem a dose mínima proposta e outros poderão necessitar de doses mais elevadas para atingir um nível terapêutico efetivo (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996).

## **2.3 Oxcarbazepina**

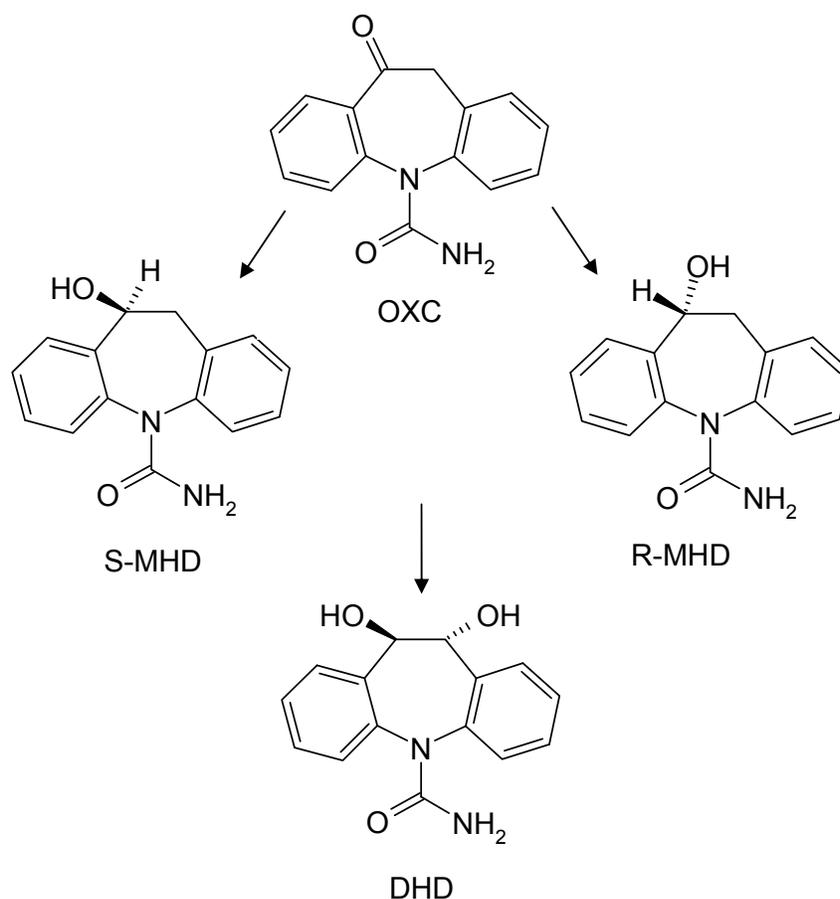
Oxcarbazepina (OXC) foi primeiramente introduzido na Dinamarca em 1990 e, em 2000, já estava registrado em 31 países para o tratamento de crises parciais e de crises tônico-clônicas generalizadas (VADJA, 2000). Segundo May, Korn-Merker e Rambeck (2003), o fármaco é aprovado em mais de 50 países.

### **2.3.1 Propriedades farmacocinéticas**

OXC é um derivado dibenzazepínico estruturalmente relacionado à carbamazepina (CBZ). OXC é um pró-fármaco que administrado por via oral é rápido e quase completamente (95%) absorvido no trato gastrointestinal, sendo rapidamente metabolizado no derivado mono-hidroxi (MHD) que, na verdade, é a substância ativa (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996; KOROLKOVAS e FRANÇA, 2006) (**Figura 1**). Devido ao radical ceto, sua biotransformação difere significativamente a de CBZ.

OXC é rapidamente reduzido pelas enzimas citosólicas hepáticas ao derivado MHD. Esse derivado é eliminado por conjugação com o ácido glicurônico e uma pequena quantidade (4% da dose) é oxidada ao derivado inativo dihidróxi (DHD) (FLESCHE, 2004).

Estudos em voluntários sadios revelaram que MHD liga-se pouco às proteínas plasmáticas (40%) quando comparado com OXC (68%) e CBZ (74%). MHD liga-se, principalmente, à albumina e não se liga à  $\alpha$ -10-glicoproteína ácida (FLESCHE, 2004).



**Figura 1** - Caminho metabólico de OXC. MHD = derivado 10-monohidroxi; R-MHD = enantiômero R de MHD; S-MHD = enantiômero S do MHD; DHD = derivado dihidroxilado. Fonte: FLESCH (2004).

OXC é eliminado do organismo humano na forma de metabólitos que são predominantemente excretados pelos rins. Mais de 95% da dose administrada aparece na urina, sendo menos de 1% eliminada como OXC livre (não conjugada). Aproximadamente 80% da dose excretada na urina é constituída de glicuronídeos de MHD (51%) ou de MHD livre (28%) e o metabólito inativo DHD é excretado em cerca de 3% da dose administrada e outros conjugados menores de MHD e OXC compreendem 13% da dose. A excreção fecal ocorre com menos de 4% da dose administrada (FLESCH, 2004).

OXC é rapidamente eliminado do plasma com valor de meia-vida de eliminação aparente entre 1,3 a 2,3 horas. A meia-vida de eliminação plasmática aparente de

MHD é extensa e, em média, nove horas, após administração oral (FLESCHE, 2004). Os aspectos farmacocinéticos de OXC estão resumidos no **Quadro 1**.

<b>Propriedades farmacocinéticas (OXC)</b>	
Absorção	Rápida e quase completa (95%)
Interação medicamentosa	Baixo perfil de interação
Metabólito ativo	Derivado 10-monohidroxi (MHD)
Ligação às proteínas plasmáticas (MHD)	40%
Meia-vida (MHD)	9 horas

**Quadro 1** – Propriedades farmacocinéticas de OXC.  
Fonte: adaptado de Guerreiro e Guerreiro, 1996.

### **2.3.2 Propriedades farmacodinâmicas**

Estudos *in vitro* com roedores evidenciaram que os canais de sódio sensíveis à voltagem são bloqueados pelo metabólito MHD, estabilizando a membrana neuronal, suprimindo disparos repetitivos e reduzindo a atividade sináptica. Outros estudos *in vitro* revelaram que MHD reduz a corrente de cálcio em neurônios estriatais e corticais, reduzindo a transmissão glutamérgica nas sinapses corticoestriatais (FLESCHE, 2004).

### **2.3.3 Reações adversas e interações farmacológicas**

Estudos clínicos evidenciaram que a tolerabilidade de OXC é comparável à de CBZ, em mono ou politerapia, em adultos e crianças. Entretanto, menor número de efeitos colaterais graves ocorreu em pacientes que fizeram uso de OXC em relação àqueles que utilizaram CBZ. Os principais efeitos colaterais com OXC foram alergia, tontura/vertigem, cansaço/fadiga e labilidade psíquica. Hiponatremia parece ser mais freqüentemente observada em pacientes em tratamentos com OXC que com CBZ, porém, raramente tem importância clínica (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996).

OXC tem menor potencial para induzir as enzimas hepáticas em relação à CBZ e, por isso, menor possibilidade de influenciar o metabolismo de outros fármacos.

Estudos *in vitro* demonstraram que OXC e MHD possuem reduzida capacidade de inibir o sistema microsomal P-450, com exceção da enzima CYP2C19 (FLESCH, 2004). Assim, fármacos como propoxifeno, cimetidina e anfotericina, que inibem o metabolismo da CBZ, não alteram a farmacocinética de OXC e, quando utilizado em politerapia, produz poucas alterações no metabolismo de outros fármacos antiepilépticos (ROCHA *et al.*, 1998). Somente em doses elevadas (doses acima de 2400 mg) produz indução de algumas substâncias. Por outro lado, induz à metabolização de estrógenos e progestógenos, componentes dos anticoncepcionais orais. Isto implica na utilização de pílulas anticoncepcionais com maior teor de estrógenos (mínimo 50 microgramas), como em mulheres que utilizam os fármacos antiepilépticos convencionais (GUERREIRO e GUERREIRO, 1996).

#### **2.3.4 Eficácia e Indicações**

OXC é indicado no tratamento de crises generalizadas tônico-clônicas e crises parciais com ou sem generalização secundária. Em função de suas vantagens farmacocinéticas, menor toxicidade e eficácia semelhante, deve ser considerado fármaco de primeira linha para epilepsias nas quais CBZ está sendo utilizada (ROCHA *et al.*, 1998).

OXC não tem demonstrado ser eficaz contra crises de ausências generalizadas ou crises mioclônicas (SCHMIDT *et al.*, 2001).

#### **2.3.5 Uso clínico e posologia**

Segundo Schmidt *et al.* (2001), experiências clínicas extensas com OXC têm demonstrado que o ajuste gradual da dose em monoterapia inicial em adultos deve basear-se em necessidades clínicas (controle das crises) e pode iniciar com dose tão baixa quanto 150 mg/dia. A dose pode ser aumentada em 150 mg/dia a cada dois dias até a dose máxima de 900-1200 mg/dia, dividida em duas doses. Caso necessário, como demonstrado em uma série de estudos clínicos, a dose inicial pode ser 300 mg à noite ou 600 mg/dia em ajustes graduais de dose com aumentos

semanais de até 600 mg/dia. Em crianças, o tratamento pode ser iniciado com 8-10 mg/kg/dia de peso corporal dividido em duas ou três doses e pode ser aumentada em 8-10 mg/kg/dia semanalmente, caso necessário para controlar as crises. A experiência do uso de OXC em crianças é limitada, não existindo dados para a administração do fármaco a crianças abaixo de três anos de idade. Quando OXC for utilizado em substituição à CBZ, a mudança pode ser feita imediatamente com dose até 50% maior, sem toxicidade (ROCHA *et al.*, 1998).

### **2.3.6 Medicamentos disponíveis no mercado**

OXC é disponível em comprimidos (300 e 600 mg) e suspensão oral (60 mg/mL). O nome do medicamento referência é Trileptal® (Novartis), primeiro a ser registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária (Anvisa) e cuja segurança, eficácia e qualidade foram comprovadas cientificamente. Atualmente, nenhuma indústria farmacêutica brasileira possui registro na Anvisa para produzir comprimidos na dose 150 mg, constituindo um campo de atuação para as farmácias magistrais.

### **2.3.7 Características químicas e físico-químicas**

A estrutura química de OXC está demonstrada na **Figura 1**. Apresenta-se como um pó cristalino branco a levemente alaranjado com peso molecular de 252,27 (O'NEIL, 2006; MOFFAT, OSSELTON e WIDDAP, 2004). O log do coeficiente de partição (log P) n-octanol/tampão fosfato (pH 7,4) é 1,30 (FLESCHE, 2004) e o log P octanol/água é 1,11 (MOFFAT, OSSELTON e WIDDAP, 2004). A constante de dissociação (pKa) é 10,7 (FLESCHE, 2004). É praticamente insolúvel em água, éter e etanol; pouco solúvel em clorofórmio, diclorometano, acetona e metanol (MOFFAT, OSSELTON e WIDDAP, 2004).

O sinônimo, o nome químico, a fórmula estrutural, o número do Chemical Abstracts Substance (CAS), a Denominação Comum Brasileira (DCB) e as características físico-químicas, estão resumidas no **Quadro 2** (O'NEIL, 2006; MOFFAT, OSSELTON e WIDDAP, 2004; FLESCHE, 2004).

<b>Fármaco</b>	Oxcarbazepina
<b>Sinônimo</b>	Oxacarbazepina
<b>Nome químico</b>	10-11-dihidro-10-oxo-5 <i>H</i> -dibenz[ <i>b,f</i> ]azepina-5-carboxamida
<b>Fórmula estrutural</b>	C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
<b>Peso molecular</b>	252,27 g/mol
<b>Nº CAS</b>	28721-07-5
<b>Nº DCB</b>	06691
<b>Características físicas</b>	pó cristalino branco a levemente alaranjado
<b>Solubilidade</b>	Praticamente insolúvel em água, éter e etanol; pouco solúvel em
<b>pKa (constante de</b>	10,7
<b>Coefficiente de partição</b>	n-octanol/tampão fosfato pH 7,4 = 1,30
<b>(Log P)</b>	octanol/água = 1,11

**Quadro 2** – Sinônimo, nome químico, fórmula estrutural, peso molecular, nº CAS, nº DCB e características físico-químicas de OXC.

Fonte: adaptado de O'neil, 2006; Moffat, Osselton e Widdap, 2004; Flesch, 2004).

## 2.4 Determinação de OXC por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE–FR) é uma técnica que tem sido muito utilizada para a quantificação de OXC em diferentes matrizes (biológicas e químicas). As condições cromatográficas utilizadas para a quantificação de OXC por diversos autores estão apresentadas na **Tabela 1**.

Observa-se que, dos onze métodos, apenas dois destinam-se ao doseamento de OXC em comprimidos e matéria-prima e que os demais visam à determinação de OXC em matrizes biológicas.

Destaca-se a utilização do solvente acetonitrila (ACN) em dez dos métodos em diferentes proporções, podendo estar ou não associado a metanol (MeOH), ou seja, outro modificador orgânico. Soluções tampão são utilizadas em seis dos métodos relatados. A maioria dos métodos emprega como fase estacionária, colunas empacotadas com sílica quimicamente ligada a grupos octadecilsilanos (C<sub>18</sub>). Eluição em gradiente é utilizada em dois dos métodos, sendo necessária para a separação de OXC dos seus metabólitos.

## 2.5 Impurezas de OXC

As impurezas de OXC estão descritas na literatura e podem ser provenientes da síntese do fármaco (materiais de partida e intermediários de síntese), bem como, das condições adversas em que o fármaco é submetido (condições de armazenamento). No **Quadro 3**, estão representadas as impurezas conhecidas de OXC (Pathare, Jadhav e Shingare, 2007; QI *et al.*, 2003). Percebe-se que CBZ, substância na qual OXC é um análogo, constitui uma impureza de síntese, uma vez que possui rota de síntese semelhante. Das impurezas apresentadas (**Quadro 3**), apenas CBZ está amplamente disponível para aquisição no comércio.

## 2.6 Dissolução *in vitro* de fármacos pouco solúveis em água

A absorção do fármaco a partir de uma forma farmacêutica sólida após administração oral depende de sua liberação pelo medicamento, de sua dissolução ou solubilização sob condições fisiológicas e de sua permeabilidade pelas paredes do trato gastrointestinal. Por causa da natureza crítica das etapas de desintegração da forma farmacêutica e de dissolução do fármaco, o teste *in vitro* deve ser relevante para prever o desempenho do produto *in vivo*. Portanto, os testes de dissolução *in vitro* para formas farmacêuticas de liberação imediata, cápsulas ou comprimidos, são empregados para assegurar a qualidade do produto lote a lote; guiar o desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas; garantir a qualidade contínua do produto e seu desempenho após modificações nas formulações, no processo de fabricação, no local de fabricação e no aumento da escala do processo industrial (U.S. FOOD..., 1997).

Os testes de dissolução são muito importantes tanto para a indústria farmacêutica quanto para as agências reguladoras para garantir a qualidade físico-química do produto.

No desenvolvimento de testes de dissolução, são feitas tentativas experimentais para a escolha de parâmetros de dissolução capazes de detectar mudanças na produção, no processo e na formulação do produto (SHAH, 1989).

O teste de dissolução deve ser executado sob condições moderadas de agitação para permitir o máximo poder discriminatório e para detectar os produtos com baixo desempenho *in vivo*. De modo geral, para o teste de dissolução de formas farmacêuticas sólidas utilizam-se os aparatos cestas ou pás (SHAH, 1989). Os aparatos cestas e pás são simples, robustos, padronizados e amplamente utilizados. A velocidade de agitação comum para as cestas está entre 50-100 rpm, enquanto para as pás está entre 50-75 rpm. Para gerar um perfil de dissolução são recomendados intervalos de 15 minutos, entretanto, para produtos que dissolvem rapidamente podem ser necessários intervalos de coleta de 5 ou 10 minutos (U.S. FOOD..., 1997).

Para fármacos altamente solúveis em formas farmacêuticas de liberação rápida, a especificação de um único ponto, como 85% dissolvidos em 60 minutos (Q = 80%) ou menos, é suficiente para teste de controle de qualidade lote a lote. Para caracterizar a qualidade de produtos contendo fármacos pouco solúveis ou insolúveis em água e assegurar o desempenho do produto *in vivo*, recomenda-se a especificação da dissolução em dois pontos: um a 15 minutos e outro a 30, 45 ou 60 minutos, para assegurar 85% de dissolução (U.S. FOOD..., 1997).

Os fármacos pouco solúveis em água são usualmente lipofílicos (Classe II, do Sistema de Classificação Biofarmacêutico) e sua liberação é o principal fator limitante do processo de absorção oral. Um fármaco pouco solúvel pode ser definido com base na dose administrada e sua solubilidade em água. *In vivo*, o processo de dissolução depende de parâmetros físico-químicos, que podem ser afetados pelas condições intraluminais do trato gastrointestinal. *In vitro*, a dissolução depende do fármaco contido no produto e das condições do teste de dissolução, tais como a composição e o volume do meio de dissolução, o pH, o tipo de aparato e a velocidade de agitação (NOORY *et al.*, 2000).

O meio de dissolução, quando possível, deve ser fisiologicamente significativo e simples. A determinação do perfil de dissolução de produtos contendo fármacos insolúveis em água requer diferentes meios de dissolução em comparação aos meios normalmente usados para produtos contendo fármacos solúveis em água.

Inicialmente, para o desenvolvimento de testes de dissolução para produtos contendo fármacos pouco solúveis ou insolúveis em água algumas etapas devem ser cumpridas, como a avaliação do efeito do pH, a escolha do tensoativo a ser usado e sua concentração no meio de dissolução. A avaliação do efeito do pH é realizada testando-se duas unidades do produto em meios aquosos diferentes, como ácido clorídrico 0,1 mol/L, tampão acetato de sódio pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8 (NOORY *et al.*, 2000). A água pura é recomendada como meio de dissolução apenas quando se prova que a variação no pH não influencia nas características de dissolução da forma farmacêutica (BRITISH..., 2007). Mecanismos como a adição de álcool ou outros solventes orgânicos ao meio aquoso são capazes de aumentar a solubilidade do fármaco, mas são pouco fisiologicamente significativos (NOORY *et al.*, 2000). Entretanto, o uso de tensoativos em meios de dissolução para fármacos insolúveis em água pode ser mais fisiologicamente significativos devido à presença natural de tensoativos no trato gastrointestinal humano, como os ácidos biliares, os sais biliares e a lecitina (SHAH, 1989).

Lauril sulfato de sódio (LSS) é um tensoativo aniônico, portanto, solúvel em água. Quando presente em meio aquoso, dissocia-se reduzindo a tensão superficial e agindo como ativo agente de superfície. Esse tensoativo sintético tem sido amplamente utilizado em testes de dissolução em substituição aos tensoativos naturais que são mais caros. Sua concentração micelar crítica é de 1,5 mmol/L, ou seja, 0,04% (p/V) (GANDER *et al.*, 1985). Esse tensoativo é capaz de mimetizar, até certo ponto, o processo de dissolução que ocorre *in vivo* (SHAH, 1989).

A habilidade do tensoativo em acelerar a dissolução *in vitro* pode ser atribuída a sua capacidade de promover a molhabilidade da partícula do fármaco, a solubilização micelar e a defloculação. A solubilização micelar ocorre quando o tensoativo dissolvido está presente na concentração que excede sua concentração micelar crítica. Os tensoativos são capazes de alcançar a solubilização de fármacos insolúveis em água quando presentes em concentrações abaixo da concentração micelar. Isto, portanto, pode ser devido à redução da tensão interfacial bem como a associação entre o fármaco e os excipientes com o tensoativo. Baixos níveis de tensoativos no meio de dissolução são recomendados, visto que estabelecem melhor correlação entre os dados de testes *in vivo* e *in vitro* (SHAH, 1989).

Os volumes de meio de dissolução mais utilizados são, geralmente, 500, 900 ou 1000 mL. As condições de esgotamento são desejadas, mas não obrigatórias. O teste de dissolução deve ser realizado a temperatura de  $37 \pm 0,5$  °C. Certos fármacos e formulações são sensíveis ao ar dissolvido no meio de dissolução, desse modo, faz-se necessário desaerar o meio (U.S. FOOD..., 1997).

O perfil de dissolução de formas farmacêuticas é recomendado para revelar mudanças no produto, como mudanças em sua formulação, permitindo comparar o desempenho do produto, sob condições idênticas, antes e após as mudanças realizadas.

**Tabela 1** - Condições de análise para a quantificação de OXC por CLAE.

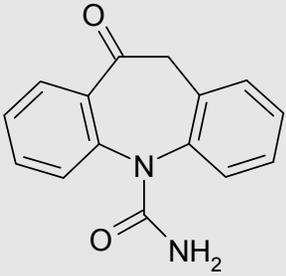
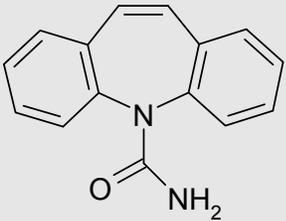
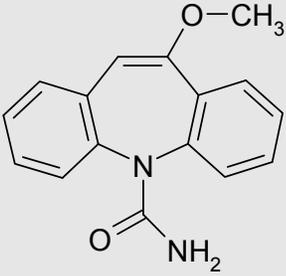
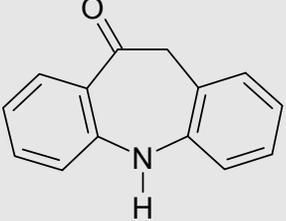
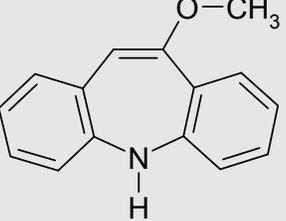
Referências	Fase móvel	Eluição	Fluxo (mL/min)	Coluna	Matriz	Deteção
Belle <i>et al.</i> , 1995	ACN:Água (27:73)	Isocrática	0,025	Microcoluna Hypersyl BDS C <sub>18</sub> (800 µm x 15 cm; 3 µm)	Dialisado sanguíneo e cerebral	UV, 220 nm
Pienimäki <i>et al.</i> , 1995	Tampão fosfato de potássio monobásico 20 mmol/L contendo 0,05% de trietanolamina (pH 6,3):ACN (80:20)	Isocrática	1,0	Superspher 60 RP-select B C18 (125 x 4,0 mm; 4 µm); TA	Soro	UV, 212 nm
Volosov <i>et al.</i> , 1999.	n-Hexano:Etanol:Isopropanol com adição de ácido acético 0,1% (18:2:1)	Isocrática	1,0	Diacel Chiralcel OD (250 x 4,6 mm); TA	Urina	UV, 215 nm
Levert, Odou e Robert, 2002	Tampão acetato de sódio 7mmol/L ajustado a pH 7,0:ACN (88:22)	Isocrática	2,0	Ultrabiosep C <sub>18</sub> (150 x 4,6 mm; 5 µm)	Soro	UV, 240 nm
Mandrioli <i>et al.</i> , 2002	Tampão fosfato 15 mmol/L ajustado com HCl 1 mol/L (pH 3,5):MeOH:ACN:trietanolamina (62,25:20,00:17,50:0,25)	Isocrática	1,0	Varian Microsorb MV Rainin C <sub>18</sub> (150 x 4,6 mm; 5 µm)	Plasma	UV, 237 nm
Qi <i>et al.</i> , 2003	ACN:tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8):Água (36:8:56)	Isocrática	1,0	Diamonsil C <sub>18</sub> (150 x 5,0 mm; 5 µm); TA	Comprimidos	UV, 255 nm

/continua.

**Tabela 1** - Condições de análise para a quantificação de OXC por CLAE (conclusão).

Referências	Fase móvel	Eluição	Fluxo (ml/min)	Coluna	Matriz	Deteção
Franceschi e Furlanut, 2005	Água:ACN:MeOH:Ácido acético:Trietanolamina ajustado com ácido acético (pH 4,2) (725:150:125:1:0,6)	Isocrática	1,2	Zorbax SB-CN (250 x 4,6 mm; 5 µm); 50 °C	Soro	UV, 214 nm
Klys, Rojek e Bolechala, 2005	Fase A: Ácido fórmico 0,1% em água Fase B: ACN:Fase A (95:5)	Gradiente	0,4	LiChroCART C18 (125 x 3,0 mm; 5 µm)	Cabelo e sangue	Espectrometria de massas
Kimiskidis <i>et al.</i> , 2007	Tampão fosfato de potássio monobásico 20 mmol/L:ACN:n-Octilamina (76:24:0,05)	Isocrática	0,7	X-TERRA C <sub>18</sub> (150 x 4,6 mm, 5 µm); 40 °C	Plasma e fluido cerebroespinal	UV, 237 nm
Lanckmans <i>et al.</i> , 2006	Fase A: Água:ACN:Ácido fórmico (98:2:0,1) Fase B: Água:ACN:Ácido fórmico (20:80:0,1)	Gradiente	0,05	C <sub>18</sub> (150 x 1,0 mm; 5 µm)	Microdialisado cerebral	Espectrometria de massas
Pathare, Jadhav e Shingare, 2007	Tampão fosfato de potássio monobásico 0,02 mol/L:ACN:MeOH (45:35:20)	Isocrática	1,0	Inertsil C <sub>18</sub> (250 x 4,6 mm; 5 µm); 25 °C	Matéria-prima	UV, 256 nm

TA, temperatura ambiente; ACN, acetonitrila; MeOH, Metanol; UV, ultravioleta.

Estrutura Química					
Nome Atribuído	Oxcarbazepina	Impureza A (Carbamazepina)	Impureza B	Impureza C	Impureza D
Fórmula Molecular	$C_{15}H_{12}N_2O_2$	$C_{15}H_{12}N_2O$	$C_{16}H_{14}N_2O_2$	$C_{14}H_{11}NO$	$C_{15}H_{13}NO$
Nº CAS	28721-07-5	298-46-4	28721-09-7	21737-58-6	4698-11-7

**Quadro 3** – Nomes atribuídos, fórmulas moleculares e números CAS de OXC e suas possíveis impurezas.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Determinar parâmetros de qualidade para OXC, matéria-prima e cápsulas. Padronizar uma formulação magistral.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Desenvolver e validar métodos de análises para o controle de qualidade de matérias-primas e cápsulas de OXC;
- desenvolver formulação padrão para OXC, contribuindo para sua manipulação adequada e com segurança pelas farmácias magistrais;
- comparar os perfis de dissolução de fórmulas manipuladas de OXC cápsulas;
- elaborar proposta de monografia OXC matéria-prima para ser incluída na Farmacopéia Brasileira e OXC cápsulas para ser incluída no Formulário Nacional.

## 4 MATERIAL

### 4.1 Equipamentos

- Agitador magnético e aquecedor Fanem<sup>®</sup> 258, São Paulo, SP;
- analisador de tamanho de partícula por difração de raio laser, Malvern Instruments Mastersizer 2000, Worcestershire, Inglaterra;
- aparelho de ultrassom MaxiClean 1400, Unique<sup>®</sup>, Indaiatuba, SP;
- balança analítica Sartorius 2482 com precisão de 0,1 mg, Goettinger, Alemanha;
- balança analítica Sartorius BP210D com precisão de 0,01 mg, Goettinger, Alemanha;
- balança semi-analítica Gehaka BG200 com precisão de 0,01 mg, São Paulo, SP;
- calorímetro DSC TA-2910, TA-instruments, EUA;
- cromatógrafo a líquido de alta eficiência, equipado com desgaseificador, bomba quaternária, forno, injetor automático e detector de arranjo de diodos (DAD), Agilent Technologies, EUA;
- desintegrador Erweka ZT3 Boeckel e Co., Hamburg, Alemanha;
- dissolutor Erweka, modelo DT80, Hamburg, Alemanha;
- encapsuladeira manual, bandeja para 150 cápsulas de tamanho 0;
- espectrofotômetro infravermelho Perkin Elmer precisely Spectrum One B, São Paulo – SP;
- espectrofotômetro UV-VIS Shimadzu, modelo 160 A, Japão;
- espectrofotômetro Hewlett Packard HP 8453, Alemanha;
- estufa Fanem<sup>®</sup> 306/1 e Fanem<sup>®</sup> controlador A-HT, São Paulo, SP;
- forno mufla Lavoisier Engro<sup>®</sup> 400, São Paulo;
- medidor de densidade de pós Erweka SVM, Hamburg, Alemanha;
- medidor de fluidez de pós e granulados Erweka GWF, Hamburg, Alemanha;
- medidor de ponto de fusão automático Mettler Toledo FP62, Columbus, EUA;
- pipetas automáticas calibradas Brand<sup>®</sup> Transferpette e Swift Pet, Wertheim, Alemanha;

- potenciômetro Metrohm 827 pH Lab, Alemanha;
- sistema de purificação de água Millipore Milli-Q-Plus<sup>®</sup>, Massachusettes, EUA;
- termobalança Mettler Toledo TGA/SDTA851e, Columbus, EUA.

#### 4.2 Materiais

- Cápsulas gelatinosas duras incolores Magiscap 0, Pharmacopéia – Attivos Magisttrais, Barueri, SP;
- coluna para CLAE de fase reversa Zorbax<sup>®</sup> Eclipse XDB-C18 (150 x 4,6 mm; 5 µm) Agilent Technologies, EUA;
- cromatofolhas de alumínio TLC de sílica gel 60 F<sub>254</sub> Merck, Darmstadt, Alemanha;
- cubas para CCD, papel tornasol Merck, papel indicador de pH universal Merck, papel de filtro quantitativo;
- membrana filtrante com porosidade de 0,45 µm;
- unidades filtrantes Millex HV 0,45 µm Millipore, Massachusettes, EUA.

#### 4.3 Reagentes

- Água destilada e água ultra-pura Milli-Q – Millipore, Massachusettes, EUA;
- solventes e reagentes grau analítico: acetato de etila, acetona, acetonitrila, ácido clorídrico, ácido nítrico, ácido sulfúrico concentrado, clorofórmio, diclorometano, etanol 95% (V/V), formaldeído, hidróxido de sódio, metanol, tioacetamida;
- solventes cromatográficos (grau HPLC): acetonitrila e metanol;
- solução padrão de chumbo 10,0 µg/ml.

#### 4.4 Matérias-primas e excipientes.

- Ácido acetilsalicílico, Laboratório de Produção de Padrões Secundários, lote: AA5001, teor: 99,54%;
- ácido salicílico, teor: 99,2%;
- amido de milho, Farmacopéia – Attivos Magistrais, Barueri, SP;
- celulose microcristalina 101, Blanver, Taboão da Serra, SP;
- dióxido de silício coloidal Aerosil<sup>®</sup>, Emelffar, São Bernardo do campo – SP;
- estearato de magnésio, Ipiranga Química, Santos – SP;
- lactose BP/USP Malha 200, All Chemistry do Brasil Ltda., São Paulo – SP;
- laurilsulfato de sódio, Farmacopéia – Attivos Magistrais, Barueri, SP;
- Starcap 1500<sup>®</sup>, Colorcon, Cotia – SP;
- manitol oral USP/BP, Henrifarma, São Paulo – SP;
- oxcarbazepina micronizada, gentilmente cedida pelo Laboratório Cristália, Itapira, São Paulo, lote: 06191/2005, teor: 100,23%;
- talco, Proquímios, Bangu – RS.

#### 4.5 Substâncias químicas de referência

- Carbamazepina SQR, Fiocruz, lote: 9602193, teor: 99,2%;
- clorpropamida SQR, Fiocruz, lote: 9402110, teor: 100,3%;
- oxcarbazepina, Sigma<sup>®</sup>, lote: 056k47071, teor: 98,5%.

## 5 MÉTODOS

### 5.1 Controle de qualidade de OXC matéria-prima

Os parâmetros de qualidade da matéria-prima para fins farmacêuticos foram definidos, em geral, de acordo com a padronização das monografias da Farmacopéia Brasileira 4ª edição (1988) e as especificações propostas foram obtidas a partir dos resultados na amostra.

#### 5.1.1 Descrição

##### 5.1.1.1 Características físicas

Foram avaliadas as características físicas da amostra quanto ao aspecto, cor e odor. O tamanho de partículas de OXC foi medido pela técnica de difração de raio laser. As condições de análise estão descritas na **Tabela 2**.

**Tabela 2** – Condições de análise para a medida da distribuição dos diferentes tamanhos de partículas na amostra por meio de difração de raio laser.

Condições de análise	Descrição e limites utilizados
Modelo utilizado	Aproximação de Fraunhofer
Sensibilidade	Normal
Faixa de tamanho analisada	0,020 a 2000,000 µm
Obscuração	Entre 10 e 20%
Dispersante	Água saturada com OXC
Dispersante da amostra	Água saturada com OXC + 1 gota de Tween 80 2,5% (p/V)
Tempo de análise	30 s
Rotação	2310 rpm

A água saturada com OXC, utilizada como dispersante, foi preparada transferindo-se, exatamente, cerca de 1,5 g de OXC para 1 L de água, sob agitação mecânica. Após 50 minutos realizou-se pré-filtração em filtro de papel comum e, posteriormente, filtração a vácuo utilizando membrana filtrante de 0,45 µm. O

dispersante foi preparado misturando-se água saturada com OXC e uma gota de Tween 80 2,5% (p/V).

Os resultados foram expressos como a média de três determinações sucessivas da mesma amostra.

### **5.1.1.2 Solubilidade**

Transferiram-se, exatamente, cerca de 10 mg de OXC para erlenmeyer e acrescentaram-se pequenas alíquotas sucessivas de solvente, exatamente medidas, até completa solubilização do fármaco, ou seja, a obtenção de uma solução límpida. O experimento foi realizado em temperatura de, aproximadamente, 25 °C. Deixou-se em ultra-som por 1 min a cada incremento de alíquota.

A solubilidade de OXC foi avaliada em solventes comumente utilizados nos ensaios em laboratórios, são eles: água; acetona; acetonitrila; ácido clorídrico 0,1 mol/L; clorofórmio; diclorometano; etanol 95% (V/V); hexano; hidróxido de sódio 0,1 mol/L; metanol. Utilizaram-se os termos descritivos referidos na Farmacopéia Brasileira 4ª edição (1988) para expressar a solubilidade em cada solvente (**Tabela 3**).

**Tabela 3** - Termos descritivos da Farmacopéia Brasileira 4ª edição (1988) para expressar a solubilidade.

<b>Termo Descritivo</b>	<b>Solvente</b>
Muito solúvel	Menos que 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 1 000 partes
Muito pouco solúvel	De 1 000 a 10 000 partes
Praticamente insolúvel ou insolúvel	Mais de 10 000 partes

O termo parte apresentado na **Tabela 3** refere-se ao número de mililitros de solvente necessários para solubilizar 1 g da substância. Como exemplo, o termo descritivo praticamente insolúvel ou insolúvel indica a solubilidade de 1 g de matéria-prima em um volume superior a dez litros de solvente.

## **5.1.2 Identificação**

### **5.1.2.1 Temperatura de fusão**

A temperatura de fusão de OXC foi determinada em medidor de ponto de fusão automático em triplicata e por calorimetria exploratória diferencial (DSC). Realizou-se análise pela técnica termoanalítica de termogravimetria (TG) com intuito de caracterizar a decomposição térmica de OXC. As condições analíticas utilizadas para as análises térmicas estão descritas na **Tabela 4**.

**Tabela 4** - Condições analíticas utilizadas nas análises térmicas para OXC por DSC e TG.

<b>Condições</b>	<b>DSC</b>	<b>TG</b>
Equipamento	TA Instruments	Mettler Toledo
Massa da amostra	3,30 mg	5,00 mg
Material cadinho e tampa	alumínio	Alumina
Capacidade do cadinho	40 µL	70 µL
Atmosfera	nitrogênio	Ar
Fluxo do gás de purga	50,0 mL/min	50,0 mL/min
Faixa de temperatura	25,0 – 300,0 °C	25,0 – 500,0 °C
Razão de aquecimento	10,00 °C/min	10,00 °C/min

Para a comparação direta das curvas de DSC e TG é importante que a razão de aquecimento e o fluxo do gás de purga sejam os mesmos em ambos os eventos térmicos (PYRAMIDES *et al.*, 1995).

### **5.1.2.2 Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho**

O espectro de absorção na região do infravermelho de OXC foi obtido por reflectância atenuada, na faixa 4000 a 650 cm<sup>-1</sup>.

### **5.1.2.3 Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta**

O espectro de absorção na região do ultravioleta de OXC foi obtido na faixa  $\lambda$  200 nm a 400 nm utilizando-se solução 50,0  $\mu\text{g/mL}$  em metanol. O espectro foi obtido por meio do espectrofotômetro de absorção no ultravioleta/visível, durante o desenvolvimento do método de doseamento de OXC. Os comprimentos de onda correspondentes ao máximo e ao mínimo de absorção foram determinados.

### **5.1.2.4 Cromatografia em camada delgada (CCD)**

Para a escolha da fase móvel adequada seguiu-se a série eluotrópica, ou seja, respeitou-se a ordem crescente de polaridade dos solventes. Os sistemas eluentes e reveladores testados foram:

#### **Eluentes**

Acetato de etila:hexano (50:50);

acetato de etila:hexano (70:30);

acetato de etila 100%;

acetato de etila:metanol (90:10);

acetato de etila:metanol (95:5);

acetato de etila:metanol (99:1).

#### **Reveladores**

Luz UV sob comprimento de onda ( $\lambda$ ) curto de 254 nm;

vapor de iodo.

Foram aplicados, em cada placa, 5,0  $\mu\text{L}$  da solução 1,0 mg/mL.

Foram utilizadas, como fase estacionária, cromatofolhas de alumínio CCD de sílica gel 60 F<sub>254</sub> para separação e detecção da amostra sob luz UV no  $\lambda$  254 nm. Para cada sistema eluente sob teste, desenvolveu-se o cromatograma em cuba de vidro saturada e, após a secagem da placa à temperatura ambiente, revelaram-se as manchas sob luz UV 254 nm, calculando-se o R<sub>f</sub> correspondente à mancha da

amostra de OXC. Confirmou-se o Rf da amostra ao revelar a cromatoplaça com vapor de iodo. O Rf foi calculado utilizando-se a equação (COLLINS, BRAGA e BONATO, 1997):

$$R_f = \frac{d_r}{d_m}$$

em que,

$d_r$  = ponto de partida da fase móvel;

$d_m$  = linha de chegada da fase móvel.

#### **5.1.2.5 Cromatografia líquida de alta eficiência**

Procedeu-se conforme **5.1.5**. Os tempos de retenção dos picos correspondentes a OXC em cada solução foram comparados.

#### **5.1.2.6 Reação química**

Foi realizada reação de identificação específica para grupos aldeídos e cetonas (SHRINER, FUSON e CURTIN, 1964).

*Preparo do reagente 2,4–dinitrofenilhidrazina:* pesaram-se, exatamente, cerca de 3 g de 2,4–dinitrofenilhidrazina e adicionaram-se 15 mL de ácido sulfúrico concentrado. Adicionaram-se a essa solução, sob agitação, 20 mL de água e 70 mL de etanol 95% (V/V). O reagente obtido foi homogeneizado e filtrado.

*Reação com 2,4–dinitrofenilhidrazina:* pesaram-se, exatamente, cerca de 5 mg de OXC e transferiram-se para tubo de ensaio, adicionaram-se 3 mL de etanol 95% (V/V) e 3 mL do reagente 2,4–dinitrofenilhidrazina. Agitou-se vigorosamente.

A formação de precipitado é indicativa de reação positiva para a presença de grupos funcionais aldeído e cetona na estrutura química da molécula. A reação foi realizada,

em paralelo, com outras substâncias para confirmação da especificidade da reação para aldeídos e cetonas.

### **5.1.3 Ensaio de pureza**

#### **5.1.3.1 Perda por dessecação**

Pesou-se, exatamente, cerca de 1 g da matéria-prima, em triplicata, em pesa-filtro tarado e previamente dessecado durante 30 minutos nas mesmas condições da amostra. Agitou-se levemente o pesa-filtro para distribuir a amostra de maneira uniforme. Colocou-se o pesa-filtro destampado em estufa a 105 °C. Após 1 hora, retirou-se o pesa-filtro da estufa, resfriou-se em dessecador até a temperatura ambiente e pesou-se. As pesagens foram realizadas após cada hora, durante as 3 horas, do ensaio de perda por dessecação. A porcentagem de perda foi calculada em relação ao peso inicial da amostra e obteve-se a média das três determinações. A perda não pode ser maior que 0,5% do peso (BRITISH..., 2007).

#### **5.1.3.2 Resíduo por incineração (cinzas sulfatadas)**

A determinação de cinzas sulfatadas foi realizada em duplicata de acordo com o procedimento descrito no Método Geral V.2.10 da Farmacopéia Brasileira 4ª edição (1988). Foram transferidos para cadinhos de porcelana, previamente calcinados e tarados, exatamente, cerca de 1 g de OXC matéria-prima, a  $750 \pm 50$  °C por 1 hora e resfriados a temperatura ambiente em dessecador. Acrescentaram-se 2,00 mL de ácido sulfúrico concentrado e aqueceu-se sob bico de Bunsen até carbonização. Incinerou-se a  $750 \pm 50$  °C até o desaparecimento do resíduo carbonizado. Resfriou-se e adicionou-se cerca de 1,00 mL de ácido sulfúrico concentrado para umedecer o resíduo. Aqueceu-se sob bico de Bunsen até que não houvesse mais desprendimento de vapores brancos e incinerou-se, novamente, até peso constante. A porcentagem de cinzas sulfatadas foi calculada em relação à massa inicial da

amostra. O resíduo por incineração não pode ser maior que 0,1% (BRITISH..., 2007).

### **5.1.3.3 Ensaio-limite de metais pesados**

O ensaio-limite para metais pesados foi realizado pesando-se, exatamente, cerca de 1 g da amostra, em duplicata e de acordo com o procedimento descrito no Método II, Método Geral <231> da Farmacopéia Americana (THE UNITED..., 2008).

As preparações amostra e padrão foram comparadas observando a coloração de cima para baixo, contra fundo branco.

### **5.1.4 Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de OXC por espectrofotometria na região UV**

Espectros de absorção na região UV de OXC foram traçados na faixa  $\lambda$  200 nm a 400 nm nas concentrações de 20,0  $\mu\text{g/mL}$ , 50,0  $\mu\text{g/mL}$  e 90,0  $\mu\text{g/mL}$  em metanol.

O método analítico para doseamento de OXC matéria-prima foi validado de acordo com as especificações recomendadas pela Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003 da Anvisa (BRASIL, 2003e) e pelo Guia ICH Q2 (R1) (INTERNATIONAL..., 1995). Os parâmetros de validação avaliados foram: seletividade, linearidade, precisão intra-dia, precisão inter-dia e robustez.

#### **5.1.4.1 Seletividade**

A seletividade do método foi avaliada em relação à CBZ, substância relacionada à OXC. Soluções de OXC padrão de trabalho e CBZ SQR foram preparadas, separadamente, nas concentrações 50,0  $\mu\text{g/mL}$  (100%) para OXC, 0,25  $\mu\text{g/mL}$  (0,5%) e 0,05  $\mu\text{g/mL}$  (0,1%) para CBZ. As concentrações escolhidas para CBZ basearam-se nos limites máximos permitidos de impurezas conhecidas (0,5%) e

outras impurezas (0,1%) estabelecidos pelo Capítulo Suplementar 1A, Volume 4, Controle de Impurezas, da Farmacopéia Britânica 2007 (BRITISH..., 2007).

Traçaram-se espectros de absorção na região UV, na faixa  $\lambda$  200 nm a 400 nm, utilizando metanol para ajuste do zero e, também, fixando-se o  $\lambda$  em 305 nm para a medida da absorvância.

#### 5.1.4.1.1 Preparo da solução padrão de trabalho de OXC

Pesaram-se, exatamente, cerca de 50 mg de OXC padrão de trabalho para balão volumétrico de 50 mL e adicionaram-se 40 mL de metanol. Submeteu-se ao ultra-som por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente (1000,0  $\mu\text{g/mL}$ ). Transferiram-se 5,00 mL para balão volumétrico de 100 mL, completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se, obtendo solução a 50,0  $\mu\text{g/mL}$ .

#### 5.1.4.1.2 Preparo da solução de CBZ SQR

*Solução (1) – Para nível máximo de impurezas de 0,5% em relação à concentração de trabalho de OXC.* Pesaram-se, exatamente, cerca de 25 mg de CBZ SQR para balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 80 mL de metanol. Submeteu-se ao ultra-som por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente (250,0  $\mu\text{g/mL}$ ). Transferiu-se 1,00 mL para balão volumétrico de 100 mL, completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se, obtendo solução a 2,5  $\mu\text{g/mL}$ . Transferiu-se 1,00 mL da solução a 2,5  $\mu\text{g/mL}$  para balão volumétrico de 10 mL, completou-se o volume com metanol e homogeneizou-se. A concentração final da solução foi de 0,25  $\mu\text{g/mL}$ .

*Solução (2) – Para nível de impurezas de 0,1% em relação à concentração de trabalho de OXC.* Transferiu-se 1,00 mL da *Solução (1)* a 2,5  $\mu\text{g/mL}$  para balão volumétrico de 50 mL, completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se, obtendo solução a 0,05  $\mu\text{g/mL}$ .

### **5.1.4.2 Linearidade**

A linearidade foi avaliada construindo-se curva analítica para OXC, a partir de três soluções padrão estoque. A faixa linear compreendeu-se de 20% a 180% da concentração de trabalho de OXC a 100% (50,0 µg/mL). A curva foi construída realizando-se diluições de cada solução padrão de trabalho estoque, obtendo-se nove concentrações diferentes. Cada solução foi medida três vezes subsequente no espectrofotômetro de absorção na região UV e obteve-se a média.

*Preparo da solução padrão de trabalho estoque:* pesaram-se, exatamente, cerca de 25 mg de OXC padrão de trabalho para balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 80 mL de metanol. Submeteu-se ao ultra-som por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente, obtendo-se solução a 0,25 mg/mL.

*Preparo das soluções 1 a 9:* transferiram-se, para balão volumétrico de 25 mL, com auxílio de bureta calibrada de 10,00 mL, os volumes de *solução padrão de trabalho estoque* indicados na **Tabela 5**. Completou-se o volume do balão volumétrico com metanol.

**Tabela 5** - Soluções 1 a 9 para a construção da curva analítica de OXC matéria-prima por espectrofotometria no UV.

<b>Solução</b>	<b>Concentração (µg/mL)</b>	<b>Nível de concentração (%)</b>	<b>Solução estoque (mL)</b>
1	10,0	20	1,0
2	20,0	40	2,0
3	30,0	60	3,0
4	40,0	80	4,0
5	50,0	100	5,0
6	60,0	120	6,0
7	70,0	140	7,0
8	80,0	160	8,0
9	90,0	180	9,0

\* Concentração de trabalho

As medidas foram feitas em espectrofotômetro de absorção na região UV no  $\lambda$  305 nm, imediatamente após o preparo das soluções.

Para a verificação da linearidade do método avaliaram-se o desvio padrão relativo (DPR) entre os FR, a curva analítica, o coeficiente de correlação, o intercepto, a distribuição aleatória dos resíduos e realizada a análise de variância (ANOVA).

### **5.1.4.3 Precisão**

#### 5.1.4.3.1 Precisão intra-dia

A precisão intra-dia foi avaliada preparando-se seis soluções a 100% da concentração de trabalho. As seis soluções padrão de trabalho de OXC foram preparadas conforme procedimento 5.1.4.1.1.

Calculou-se o DPR referente aos FR encontrados ( $n = 6$ ). Recomenda-se que o valor de DPR seja inferior a 2,00% quando a repetitividade do método está sendo avaliada (GREEN, 1996). O FR foi determinado utilizando-se a equação:

$$FR = \frac{MA}{Ca}$$

em que,

MA = média das três medidas de absorvância de cada solução amostra;

Ca = concentração da amostra.

#### 5.1.4.3.2 Precisão inter-dia

A precisão inter-dia foi avaliada realizando-se o mesmo procedimento descrito para a precisão intra-dia, para seis amostras a 100% da concentração de trabalho, em dois dias consecutivos.

Calculou-se o DPR referente aos FR encontrados para os dois dias de análise ( $n = 12$ ). Recomenda-se que o valor de DPR seja inferior a 2,00% (GREEN, 1996).

#### **5.1.4.4 Robustez**

A robustez do método foi avaliada preparando-se soluções em triplicata (S1, S2 e S3) na concentração trabalho (100%), conforme procedimento 5.1.4.1.1. As soluções foram avaliadas em dois espectrofotômetros de fabricantes diferentes. Calculou-se o DPR entre os resultados de absorvância dos dois diferentes equipamentos para a mesma solução. Recomenda-se que o DPR seja inferior a 2,0% (GREEN, 1996).

#### **5.1.4.5 Estabilidade da solução de OXC em metanol**

Para a avaliação da estabilidade das soluções S1, S2 e S3 (conforme 5.1.4.1.1) foram realizadas medidas da absorvância no  $\lambda$  305 nm ao longo de duas horas. Os tempos de medida foram os seguintes: tempo zero (imediatamente), 5, 10, 15, 30, 60, 90 e 120 minutos após o preparo. O DPR entre os resultados dos tempos de medida, após o preparo das soluções, deve ser inferior a 2,0%.

### **5.1.5 Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE para quantificação de OXC**

#### **5.1.5.1 Seleção das condições cromatográficas**

A partir do levantamento bibliográfico de métodos analíticos para a separação e a quantificação de OXC por CLAE, dois métodos foram escolhidos para avaliação das condições cromatográficas para o doseamento de OXC matéria-prima.

Testou-se o método cromatográfico descrito por Qi *et al.* (2003) e o método cromatográfico descrito por Pathare, Jadhav e Shingare (2007). As condições iniciais avaliadas estão descritas na **Tabela 6**.

**Tabela 6** - Condições cromatográficas da literatura para doseamento de OXC matéria-prima por CLAE.

Qi <i>et al.</i> , 2003	<p>Fase móvel: mistura de ACN, tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8) e água (36:8:56).</p> <p>Coluna: octadecilsilano (150 x 5,0 mm; 5 µm de tamanho de partículas).</p> <p>Temperatura do forno: ambiente.</p> <p>Fluxo: 1,0 mL/min</p> <p>Comprimento de onda de detecção: 255 nm</p> <p>Volume de injeção: 20 µL</p>
Pathare, Jadhav e Shingare, 2007	<p>Fase móvel: mistura de MeOH, ACN e tampão fosfato de potássio monobásico 0,02 M (20:35:45).</p> <p>Coluna: octadecilsilano (250 x 4,6 mm; 5 µm de tamanho de partículas).</p> <p>Temperatura do forno: 25 °C.</p> <p>Fluxo: 1,0 mL/min</p> <p>Comprimento de onda de detecção: 256 nm</p> <p>Volume de injeção: 20 µL</p>

As condições cromatográficas foram testadas adaptando-se o método para a utilização de coluna cromatográfica de fase reversa empacotada com sílica quimicamente ligada a grupos octadecilsilanos (150 mm de comprimento x 4,6 mm de diâmetro interno); tamanho de partículas 5 µm; temperatura do forno 30 °C; fluxo da fase móvel 1,0 mL/min e volume de injeção 20 µL (injetor automático). A detecção foi realizada em 253 nm,  $\lambda$  máximo detectado durante o desenvolvimento do método de doseamento de OXC por espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta (conforme 5.1.4).

Os parâmetros utilizados para avaliar a adequabilidade do sistema e a melhor separação de OXC foram: pureza de pico, tempo de retenção ( $t_R$ ), fator de cauda (T), resolução entre os picos (R) e número de pratos teóricos (N). Os valores para os parâmetros avaliados foram calculados automaticamente pelo software do cromatógrafo.

As condições cromatográficas para o doseamento de OXC foram testadas utilizando-se *Solução padrão de trabalho* de OXC na concentração 50,0 µg/mL em fase móvel. Injetaram-se três vezes a *Solução padrão de trabalho* de OXC em cada uma das condições testadas.

*Solução padrão de trabalho:* pesaram-se, exatamente, cerca de 50 mg de OXC matéria-prima para balão volumétrico de 50 mL e adicionaram-se 30 mL de acetonitrila. Submeteu-se ao ultra-som por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Transferiram-se 5,00 mL para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com fase móvel, obtendo-se solução a 50,0 µg/mL.

#### **5.1.5.2 Seletividade**

A seletividade do método para doseamento de OXC matéria-prima por CLAE foi avaliada após obter solução degradada de OXC (50,0 µg/mL) em acetonitrila quando exposta a luz direta em temperatura ambiente. Essa solução teve sua coloração modificada de incolor para levemente amarelada com o passar dos dias. As condições cromatográficas foram selecionadas e adaptadas com base na separação das impurezas provenientes da degradação de OXC em solução.

A pureza cromatográfica do pico de OXC foi determinada com auxílio do detector de arranjo de diodos (DAD).

As impurezas de OXC, exceto CBZ, são de difícil acesso no comércio e, por isso, não foram adquiridas para a determinação da seletividade do método.

#### **5.1.5.3 Linearidade**

A linearidade foi avaliada construindo-se curva analítica para OXC com onze níveis de concentrações, na faixa 50% a 150% da concentração de trabalho de OXC a 100% (50,0 µg/mL).

A curva foi construída realizando-se diluições de cada Solução estoque, obtendo-se onze concentrações diferentes. Cada Solução foi injetada três vezes subsequentes no cromatógrafo e obteve-se a média das áreas.

*Solução estoque* (SE): pesaram-se, exatamente, cerca de 25 mg de OXC matéria-prima para balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 80 mL de acetonitrila. Submeteu-se ao ultra-som por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente, obtendo-se solução a 250,0 µg/mL.

*Preparo das Soluções 1 a 11*: transferiram-se, para balões volumétricos de 25 mL, com auxílio de bureta calibrada de 10 mL, os volumes de *Solução estoque* indicados na **Tabela 7**. Completaram-se o volume dos balões volumétricos com fase móvel.

**Tabela 7** - Soluções 1 a 11 para a construção da curva analítica de OXC matéria-prima por CLAE.

Nível de concentração	Solução estoque (mL)	Fase móvel q.s.p. (mL)	Concentração (µg/mL)
50%	2,50	25 mL	25,0
60%	3,00	25 mL	30,0
70%	3,50	25 mL	35,0
80%	4,00	25 mL	40,0
90%	4,50	25 mL	45,0
100%	5,00	25 mL	50,0
110%	5,50	25 mL	55,0
120%	6,00	25 mL	60,0
130%	6,50	25 mL	65,0
140%	7,00	25 mL	70,0
150%	7,50	25 mL	75,0

Para a verificação da linearidade do método avaliaram-se o DPR entre os FR, a curva analítica, o coeficiente de correlação, o intercepto, a distribuição aleatória dos resíduos e realizada a análise de variância (ANOVA).

#### **5.1.5.4 Exatidão**

A exatidão do método foi avaliada por adição de padrão à matéria-prima em um dia de análise e determinada em três níveis de concentrações. Quantidades conhecidas do padrão de OXC foram incorporadas à matéria-prima, de modo a obter soluções com as concentrações baixa, média e alta (equivalentes a 75%, 100% e 125%) da

concentração de trabalho (50,0 µg/mL), determinando-se a porcentagem de recuperação (BRASIL, 2003e; INTERNATIONAL..., 1995).

*Solução padrão estoque:* pesaram-se, exatamente, cerca de 25 mg de OXC padrão para balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 80 mL de acetonitrila. Submeteu-se ao ultra-som por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente, obtendo-se solução a 250,0 µg/mL.

*Solução amostra estoque:* preparou-se a *Solução amostra* nas mesmas condições da *Solução padrão estoque*.

As *soluções fortificadas* foram preparadas a partir da *Solução padrão estoque* e da *Solução amostra estoque*. Transferiram-se volumes adequados da *Solução padrão estoque* a 5,00 mL da *Solução amostra estoque* em balão volumétrico de 50 mL (**Tabela 8**). Completaram-se os volumes com fase móvel.

Preparou-se a *Solução amostra diluída* transferindo-se 5,00 mL da *Solução amostra estoque* para balão volumétrico de 50 mL, completou-se o volume com fase móvel, obtendo-se solução a 50,0 µg/mL.

**Tabela 8** – Esquema de diluições para avaliação da exatidão do método para doseamento de OXC matéria-prima por CLAE.

Solução fortificada	Solução amostra estoque		Solução padrão estoque		[ ] teórica final (µg/mL)
	Volume adicionado (mL)	[ ] final (µg/mL)	Volume adicionado (mL)	[ ] final (µg/mL)	
1	5,00	25,0	2,50	12,5	37,5
2	5,00	25,0	5,00	25,0	50,0
3	5,00	25,0	7,50	37,5	62,5

Calculou-se a porcentagem de recuperação:

$$\% \text{ Recuperação} = \frac{C \text{ total} - C \text{ amostra}}{C \text{ padrão teórica}} \times 100$$

em que,

C total = concentração determinada na *Solução fortificada*;

C amostra = concentração determinada na *Solução amostra diluída*;

C padrão teórica = concentração teórica do padrão adicionado à *Solução fortificada*.

#### **5.1.5.5 Precisão**

A precisão foi avaliada em dois dias consecutivos para determinar a precisão intra e inter-dia e verificada por meio de seis determinações a 100% da concentração de trabalho (50,0 µg/mL).

*Solução amostra*: pesaram-se, exatamente, cerca de 25 mg de OXC para balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 80 mL de acetonitrila. Agitou-se no ultrassom por cinco minutos, completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se. Transferiram-se 10,00 mL para balão volumétrico de 50 mL, completou-se o volume com fase móvel.

*Solução padrão*: utilizou-se a *Solução padrão estoque* preparada para determinar a exatidão do método, conforme 5.1.5.4. Transferiram-se 10,00 mL da *Solução padrão estoque* para balão volumétrico de 50 mL e completou-se o volume com fase móvel.

Cada *Solução amostra* foi injetada três vezes e a *Solução padrão* foi injetada cinco vezes no cromatógrafo, alternando as injeções entre as *Soluções amostra* e a *Solução padrão*.

Os teores médios de OXC, os DPR e os intervalos de confiança foram calculados (n = 6). A precisão inter-dia foi avaliada calculando-se a média e o DPR das determinações realizadas em dois dias consecutivos (n = 12). Recomenda-se que o DPR para os teores nas precisões intra e inter-dia seja inferior a 2,00% (GREEN, 1996).

#### **5.1.5.6 Robustez**

A robustez permite avaliar a capacidade do método analítico em permanecer inalterado quando pequenas e deliberadas variações ocorrem em certos parâmetros

do mesmo. Os parâmetros variados para a avaliação da robustez do método de doseamento de OXC por CLAE foram: temperatura da coluna e proporção do solvente orgânico (acetoneitrila) na fase móvel.

As *Soluções amostra e padrão* foram preparadas conforme **5.1.5.5**. Os parâmetros modificados para a avaliação da robustez estão representados na **Tabela 9**.

**Tabela 9** – Parâmetros do método de doseamento de OXC modificados para a avaliação da robustez do método por CLAE.

Parâmetros	Nominal	25 °C	35 °C	30% ACN	34% ACN
Temperatura (°C)	30	25	35	30	30
%ACN	32	32	32	30	34

#### **5.1.5.7 Limite de detecção**

Compreende-se por limite de detecção (LD) do método a menor quantidade do analito que se pode detectar, mas não necessariamente quantificar, nas condições experimentais descritas. O limite de detecção foi estimado utilizando o valor do desvio padrão da resposta e da inclinação da curva analítica (INTERNACIONAL, 2005), conforme a equação:

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

em que,

$\bar{\delta}$  = desvio-padrão da resposta;

S = inclinação da curva analítica.

#### **5.1.5.8 Limite de quantificação**

Compreende-se por limite de quantificação (LQ) do método a menor quantidade do analito que se pode quantificar, nas condições experimentais descritas, com adequada precisão e exatidão. O LQ foi estimado utilizando o valor do desvio padrão

da resposta e da inclinação da curva analítica (INTERNACIONAL, 2005), conforme a equação:

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

em que,

$\delta$  = desvio-padrão da resposta;

S = inclinação da curva analítica.

## **5.2 Desenvolvimento farmacotécnico de formulações magistrais para cápsulas gelatinosas duras de OXC**

### **5.2.1 Formulações propostas**

Para a manipulação das formulações farmacêuticas sólidas de OXC foram utilizadas cápsulas gelatinosas duras, que são amplamente utilizadas pelas farmácias magistrais, constituindo a maior parte das formulações dispensadas e, também, possuem boa aceitação por parte dos pacientes.

A matéria-prima para a manipulação das cápsulas das formulações propostas foi a mesma utilizada para realizar e desenvolver os testes de controle de qualidade para OXC matéria-prima.

Baseando-se em planificação qualitativa e quantitativa de excipientes, foram manipuladas três formulações diferentes, as quais estão descritas na **Tabela 10**.

A primeira formulação foi escolhida com base nos excipientes normalmente utilizados em farmácias magistrais (excipiente padrão para cápsula).

Na segunda formulação foi utilizado apenas o Starcap 1500<sup>®</sup> como excipiente. Esse excipiente é uma mistura co-processada única de amido de milho e amido pré-gelatinizado, desenvolvido com o intuito de conferir propriedades de desintegração e

dissolução independentes do pH do meio (COLORCON, 2006). A boa fluidez do excipiente facilita o enchimento uniforme das cápsulas, garantindo, assim, uma menor variação de peso médio e um teor de fármaco dentro dos limites especificados. Além disso, a rápida desintegração do compacto de pós facilita a dispersão do fármaco nos fluidos gastrintestinais e sua subsequente dissolução.

A terceira formulação é constituída apenas por excipientes hidrofílicos de forma a facilitar a dissolução de fármacos hidrofóbicos, tais como OXC. Diluentes hidrofílicos muitas vezes servem para aumentar a velocidade de penetração dos fluidos gastrintestinais no conteúdo da cápsula, assim como para auxiliar a dispersão e dissolução do fármaco nesses fluidos (AULTON, 2005).

**Tabela 10** - Formulações desenvolvidas para cápsulas gelatinosas duras de OXC 150 mg.

<b>Componente</b>	<b>Formulação 1 (%)</b>	<b>Formulação 2 (%)</b>	<b>Formulação 3 (%)</b>	<b>Função</b>
Oxcarbazepina	40,5	43	34,9	<b>Princípio ativo</b>
Celulose microcristalina	34	-	-	<b>Diluyente</b>
Amido de milho	19	-	-	<b>Diluyente</b>
Lactose	-	-	48,4	<b>Diluyente</b>
Manitol	-	-	14,7	<b>Diluyente</b>
Starcap 1500®	-	57	-	<b>Diluyente</b>
Talco	4,5	-	-	<b>Deslizante</b>
Estearato de magnésio	0,5	-	-	<b>Antiaderente</b>
Dióxido de silício coloidal	0,5	-	0,9	<b>Deslizante</b>
Laurilsulfato de sódio	1	-	1,1	<b>Tensoativo</b>
<b>Total</b>	100	100	100	

### **5.2.5 Preparo padronizado das formulações (manipulação por nivelamento)**

A área de preparo foi reservada para a manipulação de todas as formulações contendo OXC, não havendo manipulação concomitante de outros fármacos. A manipulação foi realizada em área aberta, sem exaustão, com assepsia da mesa, da encapsuladeira e de todo o material que entrou em contato com a formulação. Os manipuladores utilizaram equipamentos de proteção individual (EPI) durante o processo de manipulação.

A encapsuladeira foi preparada para o preenchimento de 100 cápsulas isolando-se os orifícios que não seriam utilizados com fita adesiva. Os orifícios foram preenchidos com 100 cápsulas gelatinosas duras e suas partes menores (tampa) foram retiradas.

Para avaliação das principais interferências durante o processo e o estabelecimento da melhor forma de manipulação, repetiu-se o procedimento variando-se alguns parâmetros. Utilizou-se a Formulação 2 durante o estabelecimento dessas condições. A cada modificação de um parâmetro do processo de manipulação inicial foram realizados testes de determinação de peso e de doseamento com intuito de aperfeiçoar um processo padrão.

O processo de manipulação das cápsulas de OXC foi avaliado quanto aos parâmetros críticos na manipulação que são a pesagem do fármaco, a homogeneização dos pós e a distribuição na encapsuladeira.

Pesaram-se, separadamente, os excipientes de cada formulação em balança analítica de três casas decimais e o fármaco, OXC, foi pesado em balança analítica de cinco casas decimais. Inicialmente realizou-se a pesagem do fármaco em saco plástico. Verificou-se que uma parte das partículas de pó ficava aderida ao plástico, o qual foi substituído pelo papel manteiga cuja superfície lisa evita a adesão do pó.

Após pesagem, os pós foram tamisados em um tamis de malha 16 e transferidos diretamente para um gral de porcelana. A mistura de OXC aos excipientes foi realizada de acordo com as regras da diluição geométrica (acrescentando quantidade de pó igual à quantidade de pó anterior) e do mistão (começando a acrescentar na mistura os pós de menor concentração na formulação). A primeira vez em que a manipulação da formulação foi realizada, após a homogeneização no gral, a mistura de pós foi transferida para um saco plástico e misturada novamente visando obter uma mistura mais homogênea. Entretanto, conclui-se que essa etapa adicional de mistura poderia acarretar perdas, pois parte do material fica aderido ao plástico. Decidiu-se, então, realizar a mistura apenas no gral, com o auxílio do pistilo, fazendo dez movimentos circulares no sentido horário e dez movimentos circulares no sentido anti-horário. Esse procedimento foi repetido a cada incremento de

fármaco ou excipiente até completa mistura dos pós. Após ter acrescentado todo o pó, no gral de porcelana, realizaram-se movimentos com o pistilo no gral por dois minutos alternando o sentido do mesmo.

Após a mistura, o material foi transferido para a encapsuladeira, procedendo-se conforme **5.2.6**.

### **5.2.6 Preparo das cápsulas**

O volume aproximado das cápsulas gelatinosas duras é demonstrado na **Tabela 11**. A massa de pó para um determinado tamanho de cápsula é altamente dependente de sua densidade (THOMPSON, 2006).

**Tabela 11** – Volumes aproximados das cápsulas gelatinosas duras.

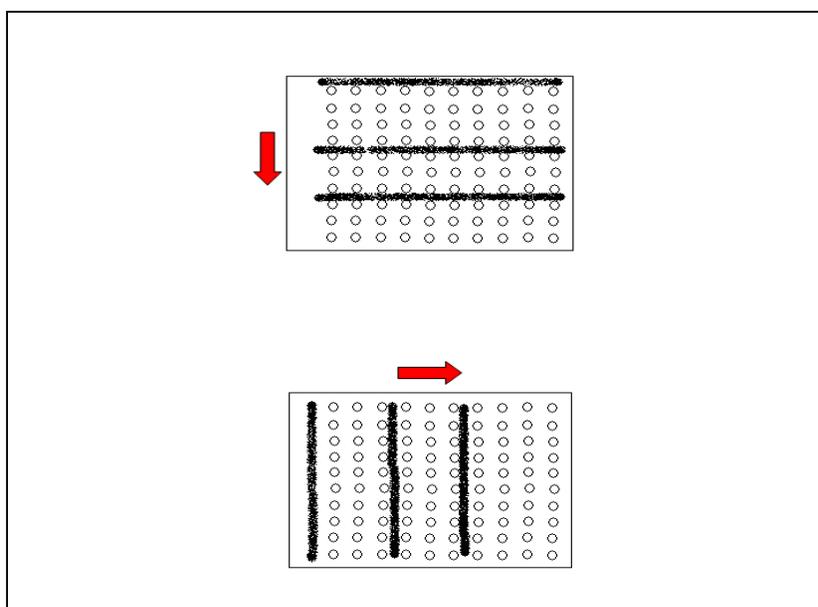
Tamanho	Volume (mL)
000	1,36
00	0,95
0	0,67
1	0,48
2	0,37
3	0,27
4	0,20
5	0,13

Fonte: Thompson, 2006.

Inicialmente, para a seleção do tamanho das cápsulas a serem utilizadas, realizou-se a determinação da densidade compactada do fármaco e da mistura de excipientes, separadamente. A determinação da densidade compactada foi realizada utilizando-se aparelho para medida da densidade dos pós (conforme **5.2.7**). Após a determinação das densidades compactadas, o tamanho da cápsula foi escolhido de forma a obter uma cápsula sem espaços vazios. Considerando-se, a baixa fluidez do pó de OXC micronizado, optou-se pela utilização da cápsula de número 0, em detrimento da cápsula de número 1 (menor cápsula que comporta a dose do fármaco). A utilização da cápsula número 0 permite o uso de maior quantidade de excipientes. A mistura

de OXC com os excipientes pode melhorar as propriedades de fluidez do fármaco, facilitando a distribuição homogênea do pó na encapsuladeira com conseqüente melhora dos resultados de determinação de peso.

A melhor forma de distribuição da mistura de pós na encapsuladeira e, posterior, preenchimento das cápsulas também foram avaliados. Inicialmente, procederam-se a distribuição e o preenchimento aleatórios. Em outras vezes, repetiu-se o procedimento de forma padronizada. O peso médio e o doseamento das cápsulas obtidas foram realizados. A amostragem das cápsulas na encapsuladeira foi realizada dividindo-a em cinco partes, sendo elas: direita superior e inferior; esquerda superior e inferior e o centro. Em cada parte da encapsuladeira foram amostradas quatro cápsulas, resultando em um total de vinte cápsulas amostradas. Essas vinte cápsulas foram utilizadas para se realizar o teste de determinação de peso e o *pool* das quatro cápsulas de cada uma das cinco partes da encapsuladeira foi utilizado para fazer o doseamento correspondente a diferentes partes da encapsuladeira. Após análise, observou-se que a forma como o pó era distribuído na encapsuladeira e como o movimento era realizado com a espátula, durante o preenchimento das cápsulas, refletiam nos resultados obtidos. Então, optou-se por distribuir o pó de forma padronizada (**Figura 2**).



**Figura 2** – Representação esquemática da distribuição padronizada (horizontal e vertical) da mistura de pós para o preenchimento das cápsulas.

### **5.2.7 Densidades aparente e compactada**

As determinações das densidades, aparente (antes da compactação) e compactada (após a compactação), dos placebos das formulações e de OXC matéria-prima foram realizadas com o objetivo de selecionar o tamanho da cápsula a ser utilizada nas formulações de OXC propostas.

As densidades, aparente e compactada, foram calculadas conforme a equação (BRITISH..., 2007):

$$D_a = \frac{M}{V_0} \qquad D_c = \frac{M}{V_f}$$

em que,

M = massa (g) utilizada do pó;

$V_0$  = volume inicial do pó na proveta (volume aparente);

$V_f$  = volume final do pó na proveta (volume compactado);

$D_a$  = densidade aparente;

$D_c$  = densidade compactada.

As densidades, aparente e compactada, de OXC foram determinadas pesando-se, exatamente, cerca de 25 g de OXC e transferindo-se para proveta de vidro de 100 mL, de modo que a massa pesada ocupasse no mínimo o volume de 50 mL da proveta. Em seguida, foi feita a medida do volume aparente do pó e anotou-se o resultado ( $V_0$ ). A análise foi realizada ajustando-se o número de batidas para 1250, numa velocidade de 250 batidas/min. Após as batidas, o volume da proveta ( $V_1$ ) foi medido para calcular as densidades aparente e compactada.

As densidades, aparente e compactada, dos placebos correspondentes a cada formulação proposta foram realizadas de acordo com o procedimento descrito para OXC.

### **5.2.8 Fluidez dos pós das formulações**

A fluidez é interpretada como a resistência em que as partículas se opõem ao movimento. A técnica utilizada para a medida de fluidez dos pós foi a determinação do ângulo de repouso ( $\alpha$ ) (LACHMAN *et al.*, 2001). O ângulo de repouso foi determinado de acordo com o método da altura fixa do funil e do cone de base variável. Deixou-se cair uma quantidade padronizada de pó da formulação (30 g), o mais regularmente possível, a partir de um funil de 9,3 cm de diâmetro superior e 0,7 cm de diâmetro inferior, até formar um cone. O diâmetro (igual a duas vezes o raio) do cone formado foi medido. O ângulo de repouso foi calculado de acordo com a equação:

$$\text{tg } \alpha = \frac{H}{R}$$

em que,

$\alpha$  = ângulo de repouso;

$\text{tg } \alpha$  = tangente do ângulo de repouso;

H = altura do cone formado (cm);

R = raio do plano horizontal formado pelo cone.

A fluidez dos pós foi avaliada conforme Método Geral <1174> da Farmacopéia Americana 31 ed. (THE UNITED..., 2008). Na **Tabela 12** estão descritas as classificações do fluxo de acordo com o ângulo de repouso obtido experimentalmente.

**Tabela 12** - Ângulo de repouso como indicação das propriedades de fluxo.

Propriedades do Fluxo	Ângulo de repouso ( $\alpha$ )
Excelente	25-30
Bom	31-35
Razoável – não necessita ajuste	36-40
Passável – necessita de ajuste	41-45
Pobre – tem que agitar, vibrar	46-55
Muito baixa	56-65
Muito, muito baixa	> 66

Fonte: THE UNITED..., 2008.

A distância entre o funil e a base para a análise da fluidez foi mantida constante (18 cm) durante todos os testes.

Alternativamente, tentou-se avaliar a fluidez da mistura de pós utilizando-se o aparelho para medida automática de fluidez de pós e granulados. Nesse caso, a fluidez foi avaliada com base na velocidade de escoamento da mistura de pós. Entretanto, a propriedade adesiva dos pós, impossibilitou a determinação da velocidade de escoamento, devido à adesão dos pós à parede do funil do equipamento.

### **5.3 Análise de OXC e excipientes por calorimetria exploratória diferencial**

A técnica termoanalítica de DSC foi utilizada com o objetivo de investigar a compatibilidade físico-química entre OXC e os excipientes utilizados nas três formulações propostas. Foram obtidas curvas DSC de OXC, de cada excipiente isolado e da mistura física entre OXC e excipiente 1:1 (p/p). O instrumento foi calibrado com padrão de índio. Os compostos foram triturados durante cinco minutos utilizando gral e pistilo. O pó triturado foi levemente compactado em um cadinho de alumínio com auxílio de um bastão de aço para obter uma camada de pó uniforme em contato com o fundo do cadinho. As amostras (2 a 4 mg) foram aquecidas (25 °C a 250 °C) a uma velocidade constante (10 °C/min), utilizando nitrogênio como gás de purga (50,0 mL/min).

### **5.4 Controle de qualidade das cápsulas de OXC**

#### **5.4.1 Reação de identificação**

Realizaram-se reações de identificação para confirmar a presença de OXC nas amostras do pó das cápsulas correspondentes a cada formulação proposta. Procedeu-se conforme descrito para OXC matéria-prima (5.1.2.6). Nas reações, utilizou-se o pó das cápsulas. O procedimento da reação está descrito a seguir.

*Reação com 2,4 – dinitrofenilhidrazina:* pesaram-se o equivalente a 5,00 mg de OXC do pó das cápsulas, adicionaram-se 3 mL de etanol 95% (V/V). Filtrou-se a solução em filtro 0,45 µm. Em seguida, adicionaram-se 3 mL do reagente de 2,4 – dinitrofenilhidrazina e agitou-se vigorosamente. A formação de precipitado alaranjado indica a reação positiva para a presença de grupos funcionais aldeído e cetona na estrutura química da molécula.

#### **5.4.2 Teste de desintegração**

Para realização do teste de desintegração, foram adotados os critérios preconizados na Farmacopéia Brasileira, 4ª edição (1988) para cápsulas gelatinosas duras, de acordo com o método geral V.1.4.1. Utilizaram-se seis cápsulas de cada formulação proposta para o teste, sendo cada cápsula colocada em um dos seis tubos do aparelho de desintegração, omitindo-se a utilização dos discos. O meio de desintegração utilizado foi água destilada na temperatura de  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . As cápsulas foram observadas durante todo o processo de desintegração e o tempo de desintegração foi registrado após verificar se as cápsulas estavam completamente desintegradas ou restavam apenas fragmentos insolúveis de consistência mole. Todas as seis unidades testadas devem estar completamente desintegradas em não mais que 45 minutos.

#### **5.4.3 Determinação de peso**

Realizou-se o teste de determinação de peso das cápsulas. Utilizaram-se vinte cápsulas provenientes da amostragem das cinco diferentes partes da encapsuladeira (superior direita e esquerda; inferior direita e esquerda e centro). Pesaram-se as cápsulas cheias separadamente e, em seguida, esvaziaram-se os invólucros e, após, os mesmos foram limpos com hastes de algodão. Posteriormente, realizaram-se as pesagens dos invólucros vazios e limpos, separadamente (BRITISH..., 2007). As massas individuais das cápsulas cheias e do pó das cápsulas (conteúdo) foram determinadas, do mesmo modo como os desvios percentuais das unidades em relação ao peso médio.

Os dados de determinação de peso para cápsulas gelatinosas duras foram obtidos conforme a Farmacopéia Brasileira, 4ª edição (1988), Farmacopéia Britânica 2007 (BRITISH..., 2007) e o Guia Prático da Farmácia Magistral (FERREIRA, 2002), sendo esse último o método freqüentemente realizado pelas farmácias magistrais. Os resultados para a determinação de peso pelos três métodos foram avaliados de acordo com os critérios preconizados pela Farmacopéia Brasileira, 4ª edição (1988), para cápsulas gelatinosas duras com peso médio acima de 300 mg, em que os limites de variação são de, no máximo,  $\pm 7,5\%$ .

#### **5.4.3.1 Determinação de peso de acordo com a Farmacopéia Brasileira, 4ª edição (1988)**

A Farmacopéia Brasileira, 4ª edição (1988) recomenda para o teste pesar, individualmente, vinte cápsulas e determinar o peso médio. Como critério de aceitação pode-se tolerar variações dos pesos individuais em relação ao peso médio de no máximo  $\pm 7,5\%$  para cápsulas acima de 300 mg. Se uma ou mais cápsulas estiver(em) fora dos limites indicados, deve-se pesar individualmente vinte unidades, remover o conteúdo de cada uma e pesar novamente. Em seguida deve-se determinar o peso médio do conteúdo pela diferença dos valores individuais obtidos entre a cápsula cheia e a vazia.

Como critério de aceitação pode-se tolerar, no máximo, duas unidades fora dos limites especificados ( $\pm 7,5\%$ ) em relação ao peso médio, porém nenhuma unidade poderá estar acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas (15,0%). Se mais que duas, porém não mais que seis cápsulas, estiverem com variação maior que 15,0% em relação ao peso médio, o peso do conteúdo é determinado em mais quarenta unidades e calcula-se o peso médio das sessenta unidades. Deve-se, em seguida, determinar as diferenças, em relação ao novo peso médio. Como critério, pode-se tolerar, no máximo, seis unidades em sessenta cápsulas cuja diferença exceda o limite de 7,5% em relação ao peso médio, porém nenhuma cuja diferença exceda 15,0%.

#### **5.4.3.2 Determinação de peso de acordo com a Farmacopéia Britânica 2007**

A Farmacopéia Britânica 2007 recomenda para o teste de determinação de peso separar vinte cápsulas e pesar cada cápsula individualmente e, em seguida, remover o conteúdo das cápsulas e pesar o invólucro vazio. Os critérios de aceitação estão descritos conforme **5.4.3.1**.

#### **5.4.3.3 Determinação de peso de acordo com o Guia Prático da Farmácia Magistral**

Pesar, individualmente, vinte cápsulas vazias e determinar o peso médio dessas unidades. Realizar o preenchimento das cápsulas com o pó da formulação e, posteriormente, pesar as cápsulas cheias e subtrair do peso individual das cápsulas cheias o peso médio das cápsulas vazias, considerando o resultado obtido como o conteúdo de pó, em massa, presente no interior das cápsulas. Em seguida, calcular o peso médio da massa do pó das vinte cápsulas. Os critérios de aceitação estão descritos conforme **5.4.3.1**.

#### **5.4.4 Quantificação de OXC em cápsulas manipuladas por espectrofotometria na região UV**

Os teores de OXC nas cápsulas manipuladas das Formulações 1, 2 e 3, contendo teoricamente 150 mg do fármaco, foram determinados por espectrofotometria de absorção na região UV utilizando para comparação da medida de absorvância o padrão de trabalho de OXC cujo teor é conhecido.

O diluente escolhido para a realização da análise foi metanol. A escolha foi feita com subsídio na maior solubilidade de OXC em metanol em comparação com a água e, também, com base no fato dos excipientes utilizados nas formulações propostas não serem significativamente solúveis em metanol (KIBBE, 2000), o que evita a interferência dos excipientes na resposta de OXC. Metanol foi utilizado para o ajuste do zero no espectrofotômetro (branco).

O mesmo método desenvolvido para OXC matéria-prima foi utilizado para a determinação do teor de OXC nas formulações propostas. Entretanto, devido à presença de excipientes nas cápsulas foi realizada uma revalidação do método de acordo com as especificações recomendadas pela Resolução RE nº 899 de 29 de maio de 2003 da Anvisa (BRASIL, 2003e) e pelo Guia ICH Q2 (R1) (INTERNATIONAL..., 1995). Os parâmetros de validação avaliados foram: seletividade, precisão e exatidão.

#### **5.4.4.1 Preparo da solução padrão de trabalho de OXC**

O preparo da solução padrão de trabalho de OXC foi realizado de acordo com 5.1.4.1.1.

#### **5.4.5 Validação de método analítico por espectrofotometria no UV para quantificação de OXC em cápsulas manipuladas**

##### **5.4.5.1 Seletividade**

Com o objetivo de avaliar possíveis interferências dos excipientes nas determinações dos teores de OXC, os espectros dos placebos foram traçados, individualmente em relação a cada formulação, sem adição de OXC.

A solução placebo foi preparada: pesaram-se, exatamente, cerca de 25 mg de pó para balão volumétrico de 50 mL e adicionaram-se 40 mL de metanol. Submeteu-se ao ultra-som por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Homogeneizou-se e filtrou-se, desprezando os primeiros mililitros do filtrado. Transferiram-se 5,00 mL para balão volumétrico de 100 mL, completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se. Traçou-se o espectro de absorção no UV, na faixa  $\lambda$  200 nm a 400 nm, utilizando metanol para ajuste do zero. As medidas de absorvância foram feitas no  $\lambda$  fixo 305 nm.

Os espectros de cada placebo foram sobrepostos ao espectro de OXC para comparação visual da interferência. Também, calculou-se o percentual de interferência de cada placebo em relação à resposta de absorvância da *solução padrão de trabalho de OXC*.

#### **5.4.5.2 Precisão**

A precisão foi determinada em dois dias consecutivos, obtendo-se os valores de precisão intra-dia (repetitividade) e inter-dia.

##### *5.4.5.2.1 Precisão intra-dia*

A precisão intra-dia foi realizada por meio da análise de seis determinações a 100% da concentração de trabalho. As soluções foram preparadas pesando-se do pó do conteúdo de 10 cápsulas o equivalente a 50 mg de OXC, transferindo-os para balão volumétrico de 50 mL. Adicionaram-se 40 mL de metanol, agitou-se no ultra-som por 10 minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Homogeneizou-se e filtrou-se, desprezando os primeiros mililitros do filtrado. Em seguida, transferiram-se 5,00 mL para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com metanol.

Os teores médios de OXC, os desvios padrão relativos (DPR) e os intervalos de confiança foram calculados para cada formulação (n = 6). Recomenda-se que o valor de DPR seja inferior a 2,00% (GREEN, 1996).

##### *5.4.5.2.2 Precisão inter-dia*

A precisão inter-dia foi determinada realizando-se o mesmo procedimento descrito para precisão intra-dia (conforme **5.4.5.2.1**) para seis soluções a 100% da concentração de trabalho, em dois dias consecutivos. Calculou-se a média e o DPR referentes a cada formulação (n = 12).

### **5.4.5.3 Exatidão**

A exatidão foi realizada pelo método do placebo contaminado, em que quantidades conhecidas do padrão são adicionadas a misturas dos componentes da formulação (mistura de excipientes) com o intuito de determinar a porcentagem de recuperação do padrão. A exatidão foi avaliada a partir de nove determinações contemplando os níveis de 80%, 100% e 120% da concentração de trabalho da solução amostra das cápsulas (50,0 µg/mL), em triplicata para cada nível de concentração (**Tabela 13**).

**Tabela 13** - Esquema de diluições para avaliar a exatidão do método para doseamento de OXC cápsulas manipuladas por espectrofotometria no UV.

Nível de concentração	Quantidade de placebo (mg)	Quantidade de OXC (mg)	Concentração de OXC (µg/L)
80%	50	80	40
100%	50	100	50
120%	50	120	60

A recuperação foi expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente, utilizando-se a equação:

$$\% \text{ Recuperação} = \frac{\text{Concentração média experimental}}{\text{Concentração teórica}} \times 100$$

Segundo Green (1996), como critério de aceitação para a média de recuperação, em um método analítico de doseamento, deve ser de  $100 \pm 2\%$ , ou seja, a recuperação deve estar compreendida na faixa 98% a 102% em cada nível. Realizou-se o teste *t* de Student para verificar se existe ou não diferença significativa entre o teor médio e o valor de recuperação de 100% (ASOCIACIÓN..., 2001).

### **5.4.6 Doseamento realizado em diferentes partes da encapsuladeira**

O doseamento foi realizado utilizando-se o pó das vinte cápsulas provenientes das cinco partes da encapsuladeira (superior direita e esquerda, inferior direita e esquerda e centro) decorrentes do teste de determinação de peso (conforme **5.4.3**).

Pesou-se, do pó das cápsulas, o equivalente a 100 mg de OXC para balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 80 mL de metanol. Submeteu-se ao ultra-som por 10 minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Homogeneizou-se e filtrou-se, desprezando os primeiros mililitros do filtrado. Transferiram-se 5,00 mL para balão volumétrico de 100 mL, completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se.

Empregou-se o método por espectrofotometria de absorção na região UV validado para a determinação do teor. Calculou-se a média e o DPR referentes a cada formulação (n = 5).

#### **5.4.7 Uniformidade de doses unitárias por uniformidade de conteúdo**

A uniformidade de doses unitárias de formas farmacêuticas foi determinada pelo método de uniformidade de conteúdo. De acordo com a Farmacopéia Brasileira, 4ª edição (1996), as cápsulas gelatinosas duras podem ser analisadas tanto por variação de peso quanto por uniformidade de conteúdo, dependendo da dose do fármaco presente na forma farmacêutica ou proporção do fármaco em relação à massa total da forma farmacêutica. As cápsulas das formulações propostas poderiam ter sido analisadas pelo método de variação de peso uma vez que possuem quantidade de fármaco maior que 50 mg. Entretanto, optou-se pelo método de uniformidade de conteúdo, uma vez que, esse método permite a determinação real do teor individual de 10 unidades testadas.

##### **5.4.7.1 Procedimento para uniformidade de conteúdo**

Transferiu-se todo o conteúdo de cada cápsula para cada balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 80 mL de metanol. Submeteu-se ao ultra-som por 10 minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Homogeneizou-se e filtrou-se, desprezando os primeiros mililitros do filtrado. Transferiram-se 2,00 mL para balão volumétrico de 50 mL, completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se.

O procedimento acima foi repetido para dez unidades de cápsulas. Prepararam-se *Soluções padrão de trabalho de OXC* a 60,0 µg/mL. Pesaram-se, exatamente, cerca de 60 mg de OXC para balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 80 mL de metanol. Submeteu-se ao ultra-som por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Transferiram-se 5,00 mL para balão volumétrico de 50 mL, completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se.

Empregou-se o método por espectrofotometria de absorção na região UV validado para a determinação do teor

## **5.5 Teste de dissolução**

### **5.5.1 Condições de esgotamento (*sink conditions*)**

As condições de esgotamento para o teste de dissolução foram avaliadas para determinar a solubilidade de OXC em meios de dissolução contendo diferentes concentrações de lauril sulfato de sódio, 0,5%, 1,0% e 1,5% (p/V), com o objetivo de determinar a menor quantidade de tensoativo necessária para avaliar a liberação do fármaco na forma farmacêutica. Adotou-se o critério em que o volume de meio é três vezes superior ao volume da solução saturada de OXC (BRITISH..., 2007). Determinou-se a massa de OXC utilizada para o experimento: considerando a dose de OXC, 150 mg por cápsula, dissolvido em 900 mL de meio de dissolução (concentração teórica = 0,17 mg/mL), as condições de esgotamento para OXC correspondem a capacidade de solubilização de, no mínimo, 0,5 mg de OXC por mililitro de meio (150 mg/300 mL).

Para a realização do teste transferiram-se, em duplicata, para erlenmeyer de 250 mL com tampa, 100 mL de cada solução de LSS. Adicionaram-se a cada erlenmeyer, exatamente, cerca de 170 mg de OXC. Os erlenmeyers foram mantidos tampados, sob agitação magnética a 25 °C por um período de 24 horas. Após esse período, foram retiradas alíquotas de cada erlenmeyer, filtradas em membrana de 0,45 µm de porosidade e diluídas até concentração adequada (conforme Lei de Beer) com

solução LSS de concentração respectiva de cada erlenmeyer. Preparou-se *solução padrão de trabalho de OXC* a 50,0 µg/mL nas três concentrações de LSS (0,5%, 1,0% e 1,5% (p/V)). As soluções foram analisadas pelo método para doseamento de OXC por espectrofotometria de absorção na região UV. As medidas foram realizadas no  $\lambda$  máximo 305 nm. Determinou-se o branco para cada solução de LSS para cada concentração respectiva sem a adição de OXC. Determinou-se a solubilidade média de OXC nas diferentes concentrações de LSS.

Preparo da *solução padrão de trabalho de OXC*: pesaram-se, exatamente, cerca de 25 mg de OXC para balão volumétrico de 25 mL. Adicionaram-se 15 mL de metanol, agitou-se sob ultra-som por 10 minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente. Transferiram-se 5,00 mL para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com a solução de LSS. A concentração final obtida foi 50,0 µg/mL.

### **5.5.2 Perfis de dissolução de cápsulas de OXC**

O estudo de dissolução foi conduzido utilizando cestas nas velocidades de 75 e 100 rpm e 900 mL de meio de dissolução. No desenvolvimento do teste de dissolução testaram-se como meio de dissolução: água purificada e soluções de LSS nas concentrações de 0,5%, 1,0% e 1,5% (p/V). As amostras foram analisadas em freqüentes intervalos de tempo para obter o perfil de dissolução das cápsulas manipuladas (Formulações 1, 2 e 3). Os tempos de coleta foram: 5, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos.

Para a Formulação 2 testaram-se todas as condições propostas de meios de dissolução e de velocidade de agitação das cestas. As condições testadas foram: água purificada 100 rpm; LSS 0,5% (75 e 100 rpm); LSS 1,0% (75 e 100 rpm) e LSS 1,5% (75 e 100 rpm). Para as Formulações 1 e 3 testaram-se os meios água purificada 100 rpm, LSS 0,5% (75 e 100 rpm) e LSS 1,0% (75 e 100 rpm).

O meio contendo o tensoativo não foi desaerado, pois esse processo resulta em aumento da quantidade de espuma.

O método analítico escolhido para fazer a quantificação do fármaco em solução foi por espectrofotometria de absorção na região UV e as medidas foram realizadas no  $\lambda$  máximo 305 nm.

### **5.5.3 Validação do método de dissolução**

#### **5.5.3.1 Seletividade**

A seletividade do método de doseamento de OXC no UV foi demonstrada pela sobreposição dos espectros da *solução padrão de trabalho de OXC* contra os espectros das soluções de LSS. As *soluções padrão de trabalho de OXC* foram diluídas nas três concentrações de LSS (0,5%, 1,0% e 1,5% (p/V)), tendo como branco as soluções de LSS utilizadas para as diluições. Os espectros das soluções de LSS foram traçados nas três concentrações de LSS utilizadas tendo como branco água purificada. As *soluções padrão de trabalho de OXC* foram as mesmas utilizadas para a realização do teste das condições de esgotamento (conforme **5.5.1**).

A avaliação da seletividade para os placebos foi realizada durante a validação do método de quantificação de OXC por espectrofotometria de absorção na região UV (conforme **5.4.5.1**).

#### **5.5.3.2 Linearidade**

A linearidade foi avaliada construindo-se curva analítica para OXC, a partir da solução padrão estoque em LSS 0,5% e 1,0% (p/V). A faixa linear testada compreendeu-se de 20% a 180% da concentração de trabalho de OXC a 100% (50,0  $\mu\text{g/mL}$ ). A curva foi construída realizando-se diluições da solução padrão de trabalho estoque, obtendo-se nove concentrações diferentes. Cada solução foi medida três vezes subsequente no espectrofotômetro de absorção na região UV e obteve-se a média das medidas.

*Preparo da solução padrão de trabalho estoque:* pesaram-se, exatamente, cerca de 25 mg de OXC padrão de trabalho para balão volumétrico de 100 mL e adicionaram-se 80 mL de metanol. Submeteu-se ao ultra-som por cinco minutos e completou-se o volume com o mesmo solvente, obtendo-se solução a 0,25 mg/mL.

*Preparo das soluções 1 a 9:* transferiram-se, para balão volumétrico de 25 mL, com auxílio de bureta calibrada de 10 mL, os volumes de *solução padrão de trabalho estoque* indicados na **Tabela 14**. Completou-se o volume do balão volumétrico com solução de LSS nas respectivas concentrações de 0,5% e 1,0% (p/V) para a construção das duas curvas analíticas.

**Tabela 14** - Soluções 1 a 9 para a construção da curva analítica de OXC em LSS 0,5% e LSS 1,0% (p/V).

Solução	Concentração ( $\mu\text{g/mL}$ )	Nível de concentração (%)	Solução estoque (mL)
1	10,0	20	1,0
2	20,0	40	2,0
3	30,0	60	3,0
4	40,0	80	4,0
5	50,0*	100	5,0
6	60,0	120	6,0
7	70,0	140	7,0
8	80,0	160	8,0
9	90,0	180	9,0

\*Concentração de trabalho

As medidas foram feitas em espectrofotômetro de absorção na região UV no  $\lambda$  de 305 nm, após preparação imediata das soluções.

Para a verificação da linearidade do método avaliaram-se o DPR entre os FR, a curva analítica, o coeficiente de correlação e o intercepto.

## 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.1 Controle de qualidade de OXC matéria-prima

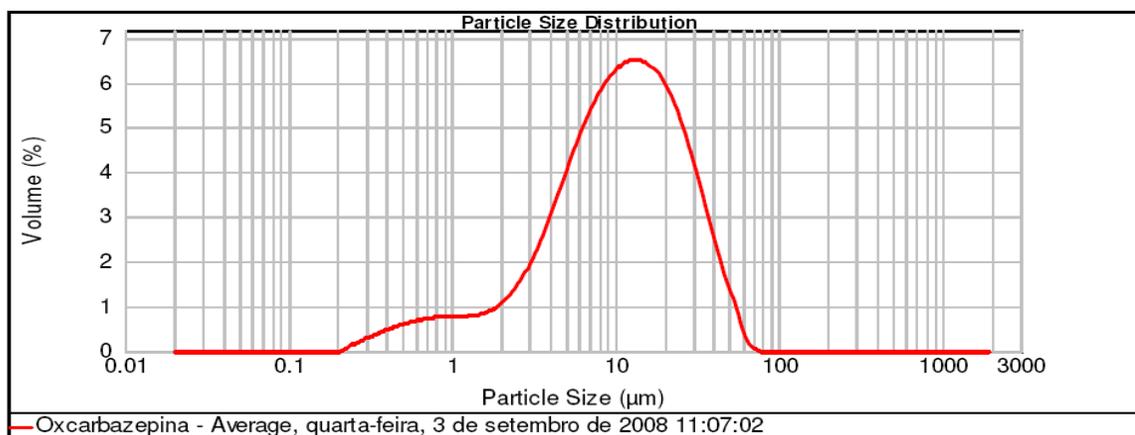
#### 6.1.1 Descrição

##### 6.1.1.1 Características físicas

O fármaco OXC presente na formulação do produto comercial Trileptal<sup>®</sup>, medicamento referência, é designado na patente como a forma cristalina A de OXC, que é descrita como um pó branco a levemente alaranjado (TEVA..., 2002)

A amostra apresentou-se como um pó fino levemente alaranjado, inodoro e isento de partículas estranhas visíveis a olho nu. Características físicas essas compatíveis com a forma cristalina A de OXC.

Avaliou-se o tamanho de partículas da matéria-prima para constatar a descrição obtida do laudo do fornecedor em que a matéria-prima está descrita como micronizada. O volume de distribuição do tamanho de partículas está demonstrado na **Figura 3** e os valores de distribuição na **Tabela 15**.



**Figura 3** - Curva de distribuição média do tamanho de partículas de OXC matéria-prima.

**Tabela 15** - Resultados obtidos de distribuição média dos diferentes tamanhos de partículas de OXC.

Distribuição média	Tamanho de partículas ( $\mu\text{m}$ )
Menor ou igual a 90%	30,772
Menor ou igual a 50%	10,855
Menor ou igual a 10%	2,313

Analisando-se os resultados da **Tabela 15** conclui-se que 90% das partículas analisadas possuem tamanho menor ou igual a 30,772  $\mu\text{m}$ ; 50% das partículas analisadas possuem tamanho menor ou igual a 10,855  $\mu\text{m}$  e 10% das partículas analisadas possuem tamanho menor ou igual a 2,313  $\mu\text{m}$ . Desse modo, observa-se que OXC matéria-prima está na forma micronizada uma vez que 90% de suas partículas possuem tamanho na ordem de micrometros, conforme especificação do laudo do fornecedor.

A obscuração obtida para a análise foi de 15,12%, valor dentro do intervalo estabelecido para a mesma (10 a 20%).

#### **6.1.1.2 Solubilidade**

A amostra de OXC matéria-prima foi pouco solúvel em acetona, acetonitrila, clorofórmio, diclorometano, etanol 95% (V/V), metanol e hidróxido de sódio 0,1 mol/L. No entanto, a solubilidade em clorofórmio e diclorometano foi maior quando comparada aos demais solventes utilizados. Conforme patente pesquisada, a forma cristalina A de OXC é pouco solúvel em solventes como: clorofórmio, diclorometano, acetona e metanol, e praticamente insolúvel em solventes como: etanol, éter e água (TEVA..., 2002). As solubilidades experimentais estão de acordo com o descrito na patente, diferindo-se apenas para o resultado da solubilidade em etanol. Na **Tabela 16**, encontram-se os resultados da avaliação da solubilidade de OXC.

**Tabela 16** - Solubilidades de OXC em diferentes solventes de acordo com os termos descritivos da Farmacopéia Brasileira 4ª edição, 1988.

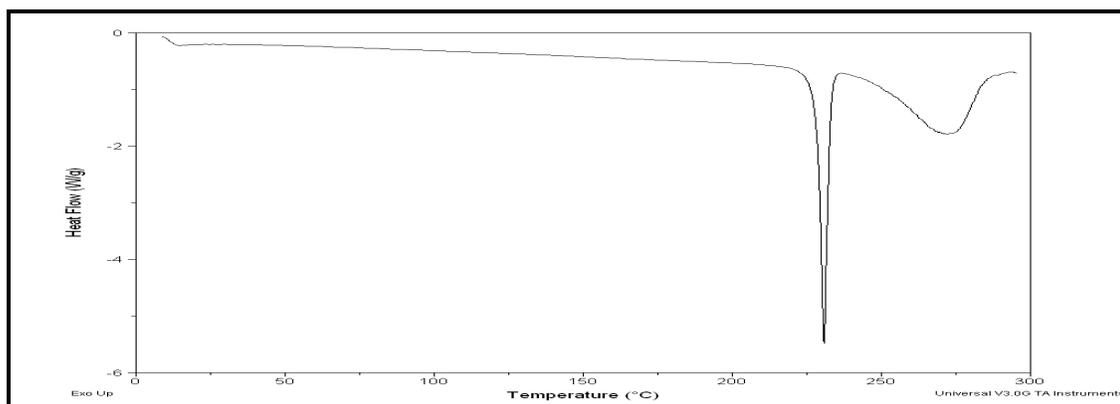
Solvente	Solubilidade
Água	Praticamente insolúvel ou insolúvel
Acetona	Pouco solúvel
Acetonitrila	Pouco solúvel
Ácido clorídrico 0,1 mol/L	Praticamente insolúvel ou insolúvel
Clorofórmio	Pouco solúvel
Diclorometano	Pouco solúvel
Etanol 95% (V/V)	Pouco solúvel
Hexano	Praticamente insolúvel ou insolúvel
Hidróxido de sódio 0,1 mol/L	Pouco solúvel
Metanol	Pouco solúvel

## **6.1.2 Identificação**

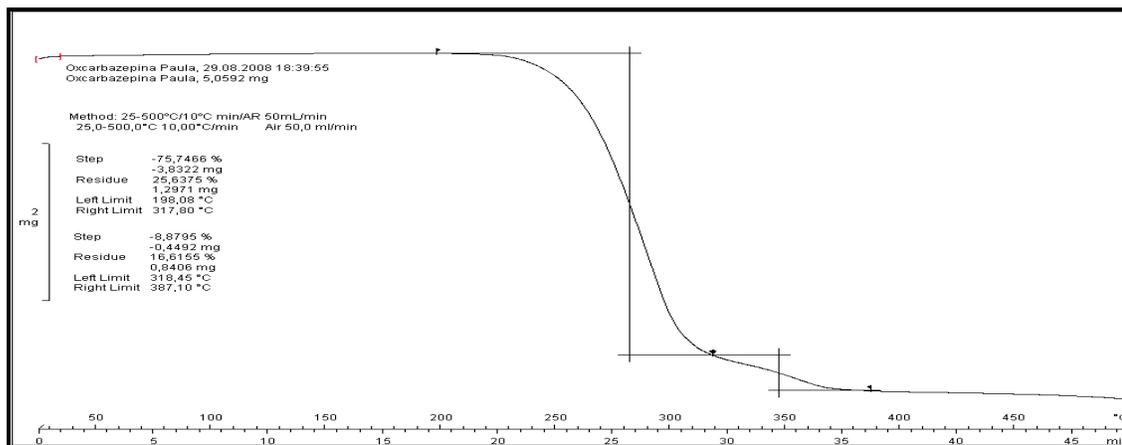
### **6.1.2.1 Temperatura de fusão**

As temperaturas de fusão de OXC matéria-prima, obtidas utilizando o equipamento automático foram: 223,5 °C, 223,4 °C e 223,1 °C. Estes valores estão conforme a especificação do laudo do fornecedor (222 a 228 °C).

Nas figuras 4 e 5 estão representadas as curvas de análises térmicas para OXC por DSC e TG, respectivamente.



**Figura 4** - Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima.

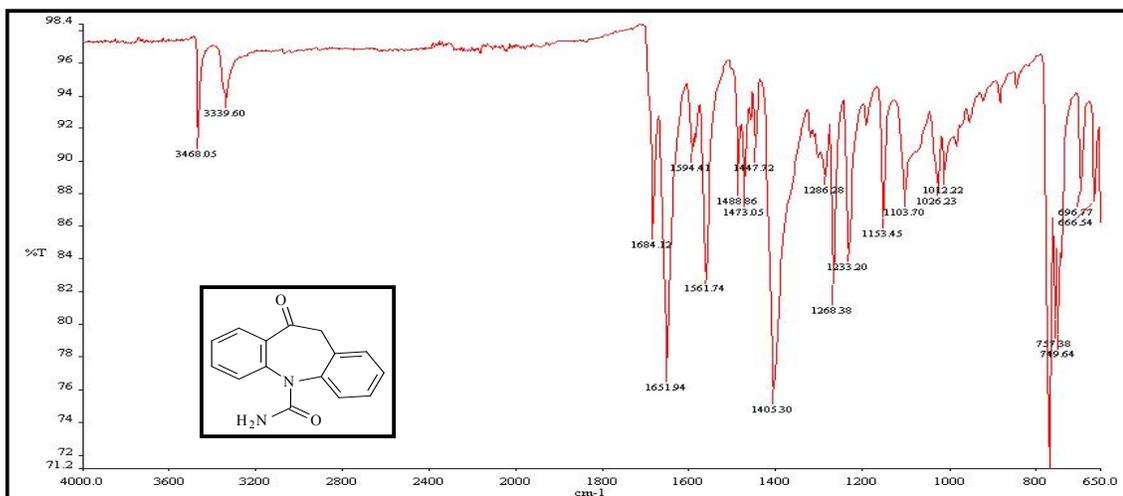


**Figura 5** - Curva de termogravimetria de OXC matéria-prima.

A análise de OXC por DSC resultou no aparecimento de pico endotérmico estreito, iniciando-se na temperatura de 221,1 °C, típico de substância pura e correspondendo a temperatura de fusão onset de OXC. Analisando-se ambas as curvas DSC e TG observa-se que a amostra é termoestável até aproximadamente 220 °C. Após essa temperatura, observa-se por TG que ocorre perda de massa correspondente a degradação da amostra, sendo essa degradação evidenciada pela presença do segundo pico endotérmico da curva de DSC. A temperatura de fusão onset está coerente com a faixa especificada por Carril et al. (2005), entre 219 °C a 221 °C.

### **6.1.2.2 Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho**

O espectro de absorção na região do infravermelho para a amostra de OXC é apresentado na **Figura 6**. As atribuições das principais bandas de absorção são apresentadas na **Tabela 17**.



**Figura 6** - Espectro de absorção no infravermelho de OXC por reflectância atenuada.

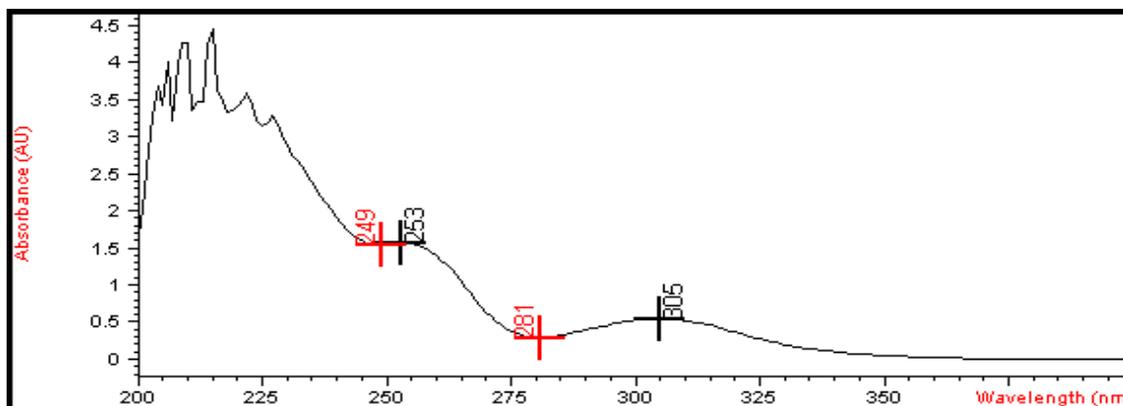
**Tabela 17** - Atribuições das principais bandas de absorção de OXC no infravermelho.

Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Intensidade	Atribuição
3468 e 3339	m	Estiramento N-H de uréia
1684	m	Estiramento C=O de uréia
1651	F	Estiramento C=O de cetona aromática
1561	m	Estiramento C=C de aromático
1405	F	Deformação de "metileno ativo" (-CH <sub>2</sub> -C=O)
749/758 ou 757	F	Deformação C-H de anel aromático orto-dissubstituído

F, forte; m, média.

### **6.1.2.3 Espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta**

O espectro de absorção na região do ultravioleta de OXC foi obtido utilizando-se solução de OXC a 50,0 µg/mL em metanol (**Figura 7**).



**Figura 7** - Espectro de absorção na região do ultravioleta de solução de OXC em metanol na concentração 50,0 µg/mL, na faixa  $\lambda$  200 nm a 400 nm.

Os valores dos  $\lambda$  máximos determinados experimentalmente em metanol para OXC foram 253 nm e 305 nm e os valores dos  $\lambda$  mínimos foram 249 nm e 281 nm. Esses valores são próximos dos valores na literatura para OXC, 256 nm e 306 nm, obtidos em solução ácida (MOFFAT, OSSELTON, WIDDAP, 2004).

#### **6.1.2.4 Cromatografia em camada delgada (CCD)**

Os valores de Rf obtidos para a amostra de OXC em diferentes sistemas de eluentes estão apresentados na **Tabela 18**. As cromatofolhas de alumínio de sílica gel foram, inicialmente, reveladas sob luz ultravioleta no  $\lambda$  de 254 nm e, posteriormente, em vapor de iodo.

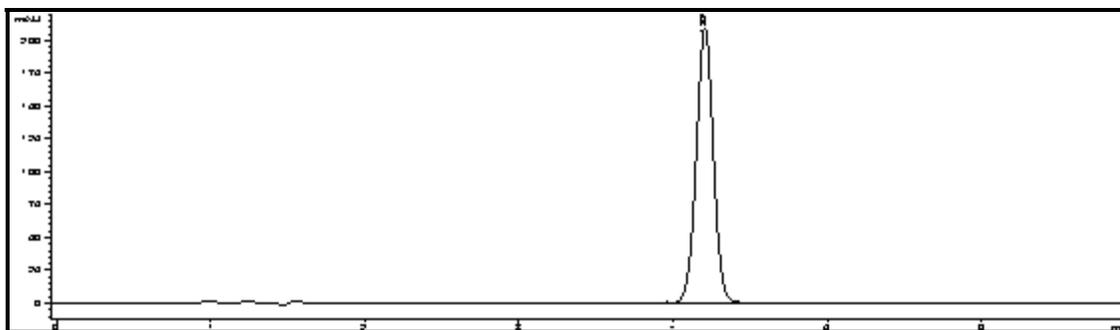
**Tabela 18** – Sistemas eluentes testados e valores de Rf obtidos para OXC.

<b>Eluente</b>	<b>Proporção %(V/V)</b>	<b>Rf</b>
Acetato de etila:hexano	50:50	0,06
Acetato de etila:hexano	70:30	0,14
Acetato de etila	100	0,35
Acetato de etila:metanol	90:10	0,66
Acetato de etila:metanol	95:5	0,59
Acetato de etila:metanol	99:1	0,48

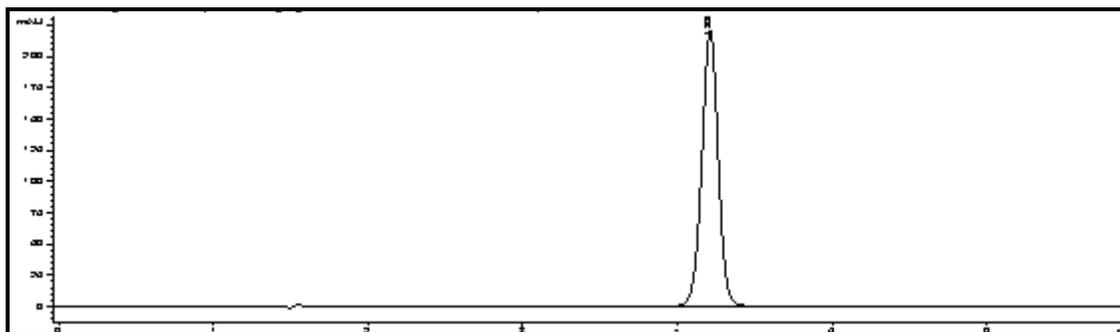
O sistema de eluentes constituído pela mistura de acetato de etila e metanol (99:1) conduziu à obtenção de  $R_f$  mais próximo de 0,50, considerado ideal para a observação da mancha relativa à OXC em comparação com possíveis manchas de impurezas de maior ou menor polaridade em relação à polaridade de OXC nas condições testadas. Não foi observada nenhuma mancha na cromatofolha além da mancha correspondente à OXC em cada sistema eluente analisado.

#### **6.1.2.5 Cromatografia líquida de alta eficiência**

Os cromatogramas da *solução amostra* e da *solução padrão* obtida conforme 5.1.5 foram comparados quanto ao tempo de retenção (figuras 8 e 9).



**Figura 8** – Cromatograma obtido para a *Solução padrão* 50,0 µg/mL [fase móvel ACN:tampão:água (32:12:56)].



**Figura 9** – Cromatograma obtido para a *Solução amostra* 50,0 µg/mL [fase móvel ACN:tampão:água (32:12:56)].

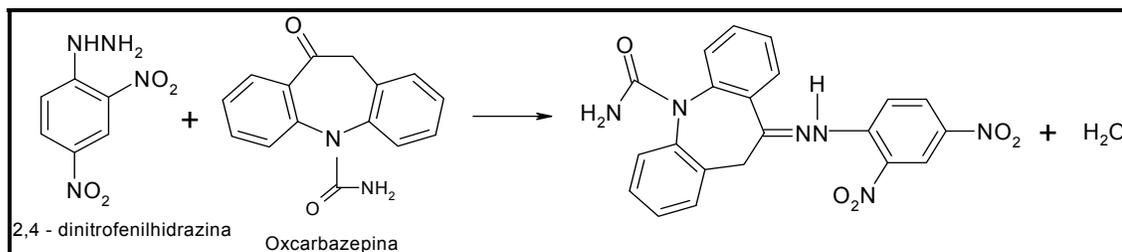
O tempo de retenção do pico principal obtido com a *Solução amostra* (4,21 min) corresponde àquele do pico principal da *Solução padrão* (4,20 min).

### **6.1.2.6 Reação química**

A constatação da presença de grupos funcionais por meio de reações químicas é uma forma de identificar e distinguir entre duas moléculas de estrutura química diferente. A confirmação da presença do grupo funcional cetona é importante para a diferenciação entre OXC e CBZ já que esse grupo químico está presente apenas na estrutura química de OXC.

#### *Reação de OXC com 2,4-dinitrofenilhidrazina*

A reação positiva com OXC produziu precipitado alaranjado. A substância 2,4-dinitrofenilhidrazina reage com o grupo funcional cetona da OXC (**Figura 10**).

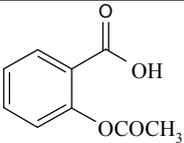
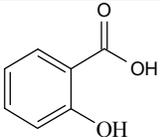
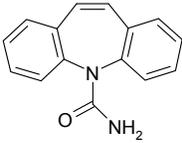
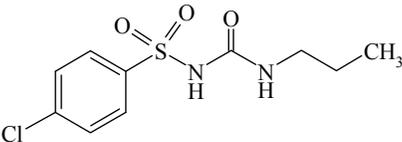
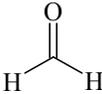
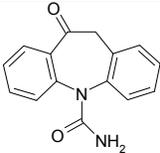


**Figura 10** - Reação de identificação do grupo funcional cetona para OXC.

Realizou-se, em paralelo, a reação de 2,4-dinitrofenilhidrazina com outras substâncias contendo em sua molécula o grupo funcional carbonila para verificar a especificidade da reação. As substâncias utilizadas, suas estruturas químicas e os resultados obtidos das reações com 2,4-dinitrofenilhidrazina estão representados na **Tabela 19**.

A reação com 2,4 dinitrofenilhidrazina mostrou-se específica para substâncias que contém os grupos funcionais cetona e aldeído, evidenciado pela reação positiva com formaldeído e OXC (**Tabela 19**). Como esperado, obteve-se resultado negativo com substâncias, cujo grupo funcional fosse diferente de cetona e aldeído, apesar de possuírem o grupamento carbonila. A reação mostrou-se específica para OXC (reação positiva) em detrimento à CBZ (reação negativa).

**Tabela 19** – Substâncias testadas, suas estruturas químicas, grupos funcionais e os resultados obtidos da reação com 2,4–dinitrofenilhidrazina.

Nome químico	Estrutura química	Grupo funcional	Resultados
Ácido acetilsalicílico		ácido carboxílico e éster	negativo
Ácido salicílico		ácido carboxílico	negativo
Carbamazepina		grupo uréia	negativo
Clorpropamida		grupo uréia	negativo
Formaldeído		aldeído	positivo, formou precipitado amarelo.
Oxcarbazepina		cetona e uréia	positivo, formou precipitado alaranjado.

### **6.1.3 Ensaio de pureza**

#### **6.1.3.1 Perda por dessecação**

A perda por dessecação foi realizada em triplicata na amostra de OXC, em estufa a 105 °C. Realizaram-se pesagens durante as 3 horas do ensaio, a cada hora, com o objetivo de determinar o tempo necessário para a realização do ensaio.

Na **Tabela 20** estão apresentados os valores obtidos de perda por dessecação, em estufa a 105 °C, por 3 horas, obtidos para a amostra de OXC.

**Tabela 20** - Porcentagens de perda por dessecação para OXC, em estufa a 105 °C, por 3 horas, em triplicata.

Réplicas	% Perda		
	1 hora	2 hora	3 hora
1	0,0080	0,0090	0,0080
2	0,0249	0,0439	0,0329
3	0,0289	0,0489	0,0538
<b>Média</b>	<b>0,0206</b>	<b>0,0339</b>	<b>0,0316</b>

A porcentagem de perda por dessecação entre os intervalos de tempo, durante as três horas de ensaio não mostraram diferença estatisticamente significativa de acordo com a análise de variância (ANOVA), com índice de significância de 5%.

Estabeleceu-se o tempo de 2 horas para a realização do ensaio, julgando-o suficiente para garantir a eliminação de substâncias orgânicas voláteis presentes na amostra.

A especificação adotada para esse teste foi no máximo 0,5%, de acordo com o limite típico para matéria-prima preconizado na literatura (BRITISH..., 2007). Portanto, o valor encontrado de perda para a amostra analisada foi inferior ao limite estabelecido.

Limites elevados de porcentagem de perda por dessecação geralmente refletem más condições de armazenamento das matérias-primas que, por sua vez, podem estar sujeitas a maior susceptibilidade de degradação.

### **6.1.3.2 Resíduo por incineração (cinzas sulfatadas)**

Os resíduos obtidos por incineração para OXC foram desprezíveis (0,00%), indicando ausência de impurezas inorgânicas detectáveis. Foi proposta a especificação de no máximo 0,1% como limite máximo permitido de resíduo por

incineração de acordo com o preconizado na literatura para limite típico de cinzas sulfatadas (BRITISH..., 2007).

### **6.1.3.3 Ensaio-limite de metais pesados**

O Método II foi selecionado devido à baixa solubilidade de OXC e à coloração levemente amarelada da sua solução, o que impede a obtenção de uma solução límpida e incolor, condição necessária para o emprego do Método I.

As preparações amostra de OXC, em duplicata, apresentaram coloração menos intensa do que as preparações padrão de nitrato de chumbo. Foi proposto o limite de 0,002% (20 ppm) de metais pesados, conforme preconizado na literatura como limite típico para matéria-prima (BRITISH..., 2007).

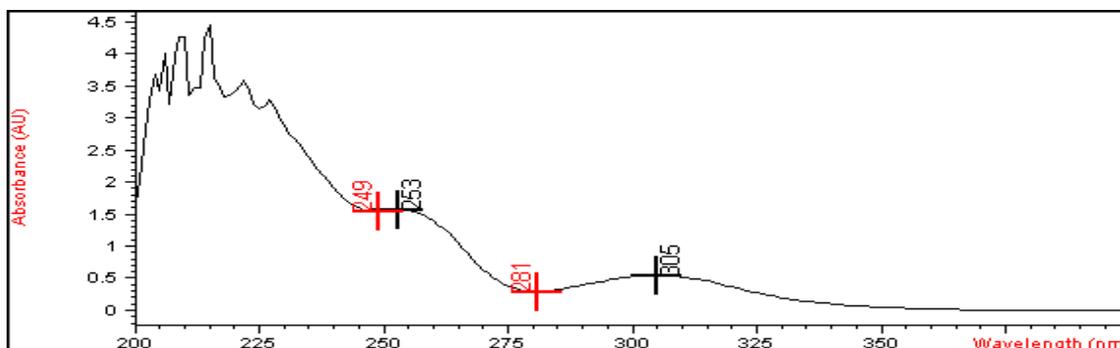
### **6.1.4 Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de OXC por espectrofotometria na região UV**

O método de doseamento para OXC foi desenvolvido traçando-se espectros de absorção no UV de solução de OXC, em metanol, em diferentes concentrações: 20,0 µg/mL, 50,0 µg/mL e 90,0 µg/mL. Os máximos de absorvância no UV para OXC compreenderam os  $\lambda$  253 nm e 305 nm, visualizados na concentração 20,0 e 50,0 µg/mL. Entretanto, o máximo 253 nm não foi observado na concentração 90,0 µg/mL. As absorvâncias nos comprimentos de onda máximos, 253 nm e 305 nm, estão descritas na **Tabela 21**.

**Tabela 21** - Absorvância das soluções de OXC de 20,0, 50,0 e 90,0 µg/mL, em metanol, nos máximos de absorção (253 nm e 305 nm).

Soluções (µg/mL)	Absorvâncias	
	$\lambda$ 253 nm	$\lambda$ 305 nm
20,0	0,568	0,1901
50,0	1,4523	0,4977
90,0	-----	0,8991

Na **Figura 11** pode-se observar os máximos e mínimos de absorvância para a solução de OXC na concentração 50,0 µg/mL.



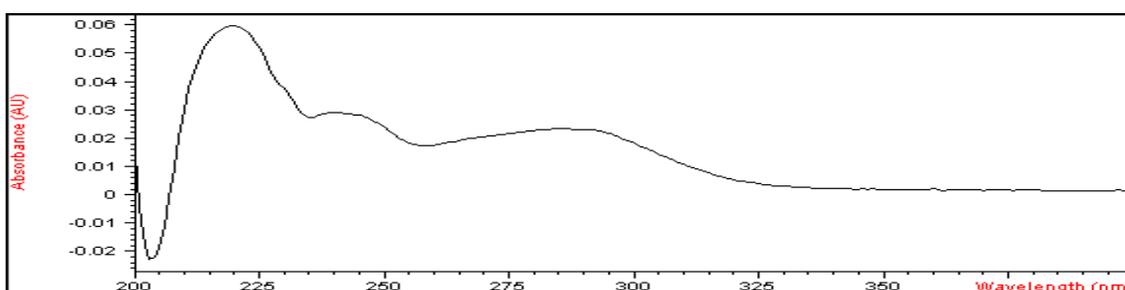
**Figura 11** - Espectro de absorção na região UV da solução de OXC em metanol na concentração 50,0 µg/mL, na faixa 200 nm a 400 nm.

Considerando 253 nm um  $\lambda$  em que muitos cromóforos de fármacos absorvem e, portanto, menos específico, determinou-se 305 nm como  $\lambda$  a ser utilizado nas medidas. Utilizou-se metanol como solvente para as soluções de OXC, pois o fármaco é solúvel nas quantidades pesadas para as soluções e o solvente não absorve no  $\lambda$  fixo escolhido para as medidas de absorvância de OXC (305 nm). Empregou-se metanol para ajuste do zero (branco) do espectrofotômetro e estipulou-se que as medidas devem ser realizadas logo após o preparo das soluções.

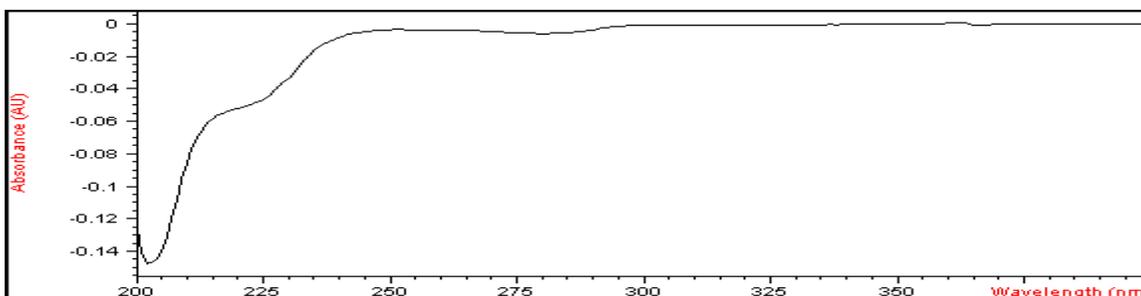
Observando-se os espectros de absorção no UV demonstrados na **Figura 11** e os valores da **Tabela 21**, percebe-se que a absorvância aumenta proporcionalmente com o aumento da concentração de OXC. Nas concentrações utilizadas, as absorvâncias em 305 nm estão dentro da faixa ótima de leitura para obtermos resposta linear, ou seja, para que as respostas obedeçam a Lei de Beer. Estipulou-se a concentração de 50,0 µg/mL como a concentração de trabalho (100%), uma vez que sua absorvância é cerca de 0,50, constituindo um valor intermediário de absorvância para garantir que as medidas obedeçam a Lei de Beer.

#### **6.1.4.1 Seletividade**

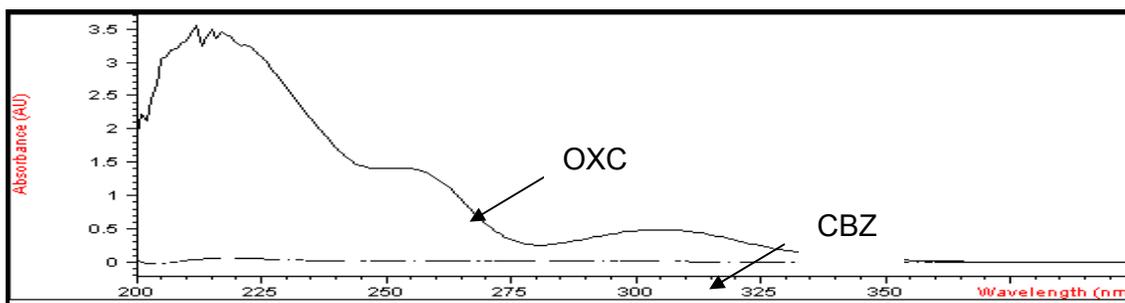
Traçaram-se os espectros de absorção no UV, na faixa 200 nm a 400 nm, de soluções de OXC e CBZ, nas concentrações 50,0 µg/mL (100%) para OXC, 0,25 µg/mL (0,5%) e 0,05 µg/mL (0,1%) para CBZ. Os espectros obtidos para as soluções de CBZ estão demonstrados nas figuras 12 e 13. A sobreposição dos espectros de absorção da solução de OXC na concentração 50,0 µg/mL e da solução de CBZ na concentração 0,25 µg/mL está demonstrada na **Figura 14**.



**Figura 12** - Espectro de absorção na região UV da solução de CBZ em metanol na concentração 0,25 µg/mL, na faixa 200 nm a 400 nm.



**Figura 13** - Espectro de absorção na região UV da solução de CBZ em metanol na concentração 0,05 µg/mL, na faixa 200nm a 400 nm.



**Figura 14** - Sobreposição dos espectros de absorção na região UV, da solução de OXC na concentração 50,0 µg/mL e da solução de CBZ na concentração 0,25 µg/mL, em metanol, na faixa 200 nm a 400 nm.

Os valores de absorvância no  $\lambda$  fixo de 305 nm para a solução de OXC e de CBZ estão apresentados na **Tabela 22**.

**Tabela 22** - Valores de absorvância das soluções de OXC e CBZ, em 305 nm, e porcentagens de interferência das soluções de CBZ de 0,05 e 0,25  $\mu\text{g/mL}$  na absorvância da solução de OXC.

Soluções	Absorvância em 305 nm	% de absorção em relação à absorção de OXC em 305 nm
OXC (49,98 $\mu\text{g/mL}$ )	0,49129	100
CBZ (0,05 $\mu\text{g/mL}$ )	0,00	Não absorve
CBZ (0,25 $\mu\text{g/mL}$ )	0,01440	2,93

Observa-se, analisando a **Tabela 22**, que para a solução de CBZ na concentração 0,05  $\mu\text{g/mL}$  (0,1%) não houve absorção significativa e que para a solução de CBZ na concentração 0,25  $\mu\text{g/mL}$  (0,5%) houve absorção de 0,01440, correspondente a 2,93% de absorvância em relação a absorvância de uma solução de OXC a 50,0  $\mu\text{g/mL}$ . A CBZ, sendo uma impureza de síntese de OXC, se presente na matéria-prima em uma proporção de 0,5% do total da quantidade de OXC contribuirá para a absorvância final da solução de OXC em 2,93%, uma porcentagem de contribuição alta na resposta do fármaco de interesse. Desse modo, um método para o doseamento de OXC matéria-prima por CLAE faz-se necessário para a separação de possíveis substâncias relacionadas em relação ao pico de OXC para adequada determinação do teor.

O desenvolvimento de um método de doseamento de OXC matéria-prima no UV é uma alternativa ao doseamento por CLAE. Entretanto, deve-se tornar claro que o método de doseamento por CLAE é mais confiável do que por espectrofotometria no UV para análise de matéria-prima, pois provavelmente as substâncias relacionadas à OXC (impurezas) possuem absorção apreciável no  $\lambda$  fixo de doseamento no UV de OXC, uma vez, que possuem cromóforos semelhantes.

#### **6.1.4.2 Linearidade**

Foi construída curva analítica para OXC a partir de nove concentrações diferentes, cada uma em triplicata. A curva obtida demonstrou relação linear entre as concentrações das soluções ( $\mu\text{g/mL}$ ) e as medidas de absorvância, na faixa de

concentração 10,0 a 90,0 µg/mL, que correspondem à faixa de 20 a 180% da concentração de trabalho. Na **Tabela 23**, estão apresentados os valores de concentração, suas respectivas medidas de absorvância e os fatores de resposta para a avaliação da linearidade.

**Tabela 23** - Concentrações das soluções, medidas de absorvância para a construção da curva analítica de OXC matéria-prima e fatores de resposta.

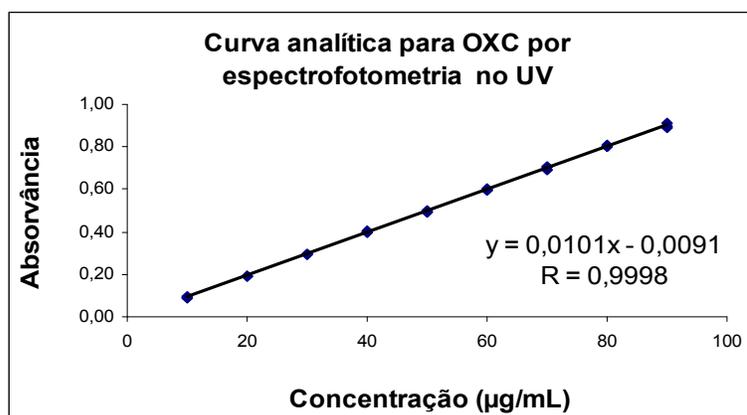
Nível	Concentração (µg/mL)	Absorvância	FR
20%	10,0	0,91042	0,0101
	10,0	0,89409	0,0099
	10,0	0,89146	0,0099
40%	20,0	0,80158	0,0100
	20,0	0,80994	0,0101
	20,0	0,80155	0,0100
60%	30,0	0,69481	0,0099
	30,0	0,70394	0,0101
	30,0	0,70546	0,0101
80%	40,0	0,60080	0,0100
	40,0	0,59885	0,0100
	40,0	0,59556	0,0099
100%	50,0	0,49742	0,0099
	50,0	0,49175	0,0098
	50,0	0,49357	0,0099
120%	60,0	0,40252	0,0101
	60,0	0,39496	0,0099
	60,0	0,39624	0,0099
140%	70,0	0,29529	0,0098
	70,0	0,29487	0,0098
	70,0	0,29568	0,0099
160%	80,0	0,19376	0,0097
	80,0	0,19267	0,0096
	80,0	0,19394	0,0097
180%	90,0	0,09059	0,0091
	90,0	0,09235	0,0092
	90,0	0,09050	0,0091
<b>Média</b>			0,0098
<b>DPR</b>			2,93%

Os valores dos fatores de resposta calculados foram próximos entre si e o DPR foi inferior a 5% (2,93%), indicando que existe uma possível linearidade.

O FR expressa a relação existente entre a resposta (absorvância) e a concentração, pela razão entre as mesmas. Em uma curva analítica, os FR devem ser semelhantes

entre si e próximos do valor da inclinação da reta. Calcularam-se os FR e o DPR entre eles. Recomenda-se que o DPR seja inferior a 5% (ASOCIACIÓN..., 2001).

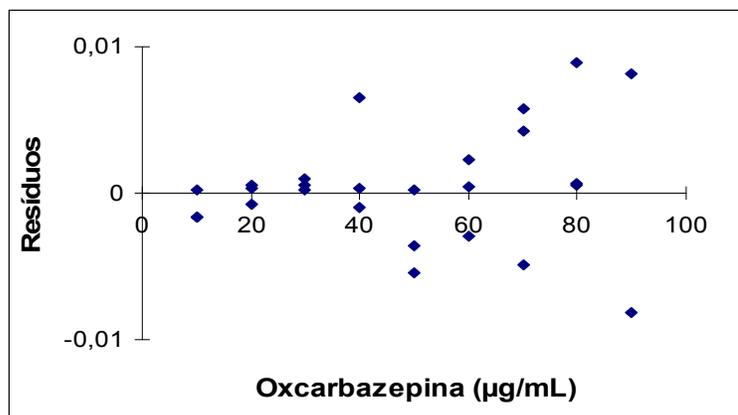
Na **Figura 15** está representada a curva analítica de OXC por espectrofotometria de absorção no UV e a equação da reta, calculados por regressão linear pelo método dos mínimos quadrados.



**Figura 15** – Curva analítica de OXC e a equação da reta obtida para avaliação da linearidade do método para doseamento de OXC matéria-prima por espectrofotometria de absorção na região UV.

O coeficiente de correlação foi superior a 0,999, indicando correlação linear entre as concentrações de OXC e a absorvância na faixa 20 a 180% da concentração de trabalho. O intercepto foi diferente de zero ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ), entretanto, não foi superior a 2% da resposta obtida a 100% da concentração de trabalho, conforme recomendado por Green (1996).

A representação dos resíduos versus concentração de OXC permite avaliar a distribuição aleatória dos pontos (**Figura 16**).



**Figura 16** – Plotagem da distribuição dos resíduos da curva analítica para o doseamento de OXC por espectrofotometria de absorção na região UV.

A análise de variância indica regressão linear estatisticamente significativa ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

### **6.1.4.3 Precisão**

#### 6.1.4.3.1. Precisão intra-dia

Avaliou-se a precisão intra-dia preparando-se seis soluções a 100% da concentração de trabalho. A partir das medidas de absorvância obtidas para as soluções de OXC, calculou-se o fator de resposta e o DPR. Na **Tabela 24** estão apresentados os valores obtidos para avaliar a precisão intra-dia do método.

**Tabela 24** - Precisão intra-dia para o método de doseamento de OXC matéria-prima.

Amostra	Massa (mg)	Absorvância	Concentração (µg/mL)	Fator de Resposta (FR)
1	50,00	0,49593	50,00	9,92
2	50,37	0,50603	50,37	10,05
3	50,19	0,49679	50,19	9,90
4	51,13	0,50568	51,13	9,89
5	50,60	0,50102	50,60	9,90
6	50,45	0,49898	50,45	9,89
<b>FR médio</b>				9,92
<b>DPR</b>				0,61%

O valor de DPR encontrado foi de 0,61, valor abaixo do limite de 2,00%, o que indica que o método desenvolvido apresenta precisão intra-dia adequada.

#### 6.1.4.3.2 Precisão inter-dia

Avaliou-se a precisão inter-dia realizando-se o mesmo procedimento descrito para a precisão intra-dia, para seis amostras a 100% da concentração de trabalho, em dois dias consecutivos. A partir das medidas de absorvância obtidas para as soluções de OXC, calculou-se o fator de resposta e o DPR. Na **Tabela 25** estão apresentados os valores obtidos para avaliar a precisão inter-dia do método.

**Tabela 25** - Precisão inter-dia para o método de doseamento de OXC matéria-prima.

Dia	Amostra	Massa (mg)	Absorvância	Concentração (µg/mL)	Fator de resposta
1	1	50,00	0,49593	50,00	9,92
	2	50,37	0,50603	50,37	10,05
	3	50,19	0,49679	50,19	9,90
	4	51,13	0,50568	51,13	9,89
	5	50,60	0,50102	50,60	9,90
	6	50,45	0,49898	50,45	9,89
2	1	50,21	0,50580	50,21	10,07
	2	50,67	0,50689	50,67	10,00
	3	51,05	0,50924	51,05	9,98
	4	50,82	0,50945	50,82	10,02
	5	50,34	0,50504	50,34	10,03
	6	50,17	0,50306	50,17	9,96
<b>FR médio</b>					9,97
<b>DPR</b>					0,70%

O valor de DPR encontrado foi de 0,70, valor abaixo do limite de 2,00%, o que indica que o método desenvolvido apresenta precisão inter-dia adequada.

#### **6.1.4.4 Robustez**

A robustez foi avaliada comparando-se as absorvâncias das soluções de OXC, S1, S2 e S3 em dois equipamentos diferentes, imediatamente após o preparo das soluções (**Tabela 26**).

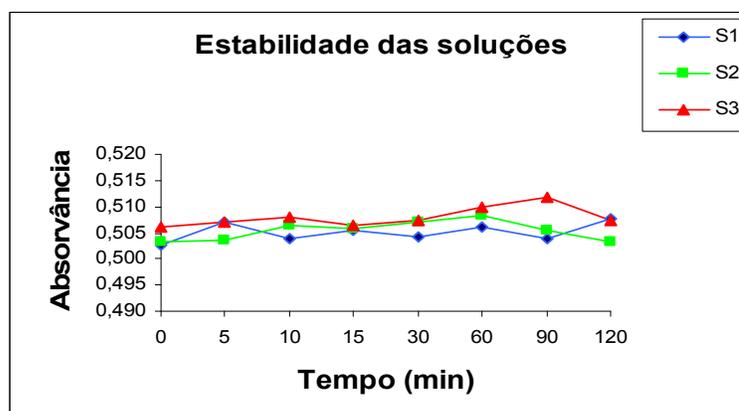
**Tabela 26** – Resultados das medidas de absorvância das soluções S1, S2 e S3 de OXC para avaliar a robustez em diferentes espectrofotômetros.

Soluções	Espectrofotômetros	
	Hewlett Packard 8453	Shimadzu 160A
S1	0,50272	0,497
S2	0,50322	0,498
S3	0,50626	0,502
<b>Média</b>	0,50407	0,499

Os resultados foram analisados pelo teste t ao nível de significância de 5%. O valor de t experimental (2,69) foi inferior ao valor tabelado (2,78) significando que não há diferença entre as médias de absorvância das soluções medidas nos dois equipamentos testados.

#### **6.1.4.5 Estabilidade da solução de OXC em metanol**

As estabilidades das soluções S1, S2 e S3 a temperatura ambiente, ao longo de duas horas, foram avaliadas e estão representadas sobrepostas na **Figura 17**.

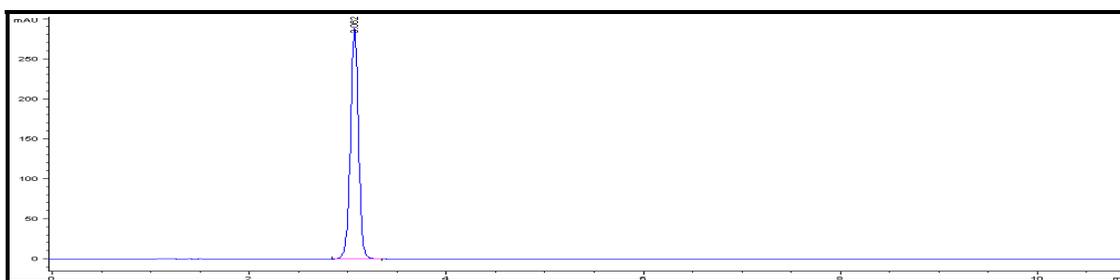


**Figura 17** – Representação gráfica da sobreposição das curvas de estabilidade das soluções S1, S2 e S3 por um período de 120 minutos.

O DPR das medidas de cada solução entre todos os tempos medidos foi: 0,35% para a S1; 0,37% para a S2 e 0,37% para a S3. Pode-se concluir que a solução de OXC em metanol mantém-se estável por um período de pelo menos duas horas após o preparo.

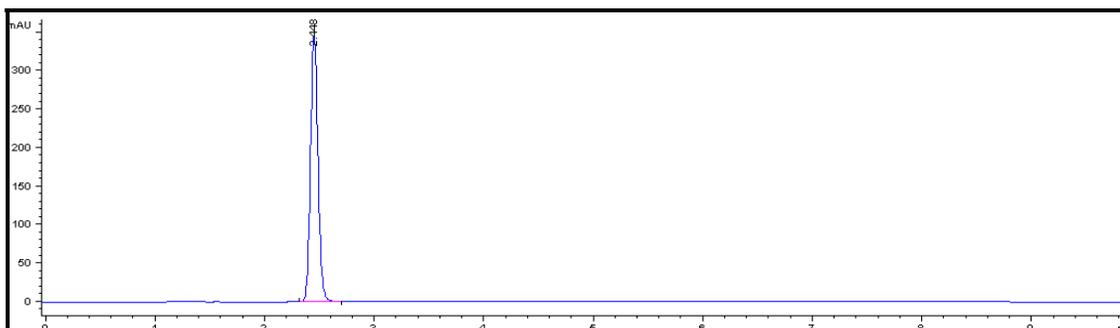
### **6.1.5 Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE para quantificação de OXC**

O cromatograma obtido por meio das condições cromatográficas descritas por Qi *et al.* (2003), utilizando solução de OXC recém preparada (50,0 µg/mL), está representado na **Figura 18**.



**Figura 18** - Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de Qi *et al.* (2003) [fase móvel mistura de ACN, tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8) e água (36:8:56); pureza de pico 99,96%;  $t_R$  = 3,06 min; fator T = 0,98; N = 6953; detecção 253 nm].

O cromatograma obtido por meio das condições descritas por Pathare, Jadhav e Shingare (2007), utilizando solução de OXC recém preparada (50,0 µg/mL), está representado na **Figura 19**.



**Figura 19** - Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de Pathare, Jadhav e Shingare (2007) [fase móvel mistura de MeOH, ACN e tampão fosfato de potássio monobásico 0,02 M (20:35:45); pureza de pico 99,92%;  $t_R$  = 2,45 min; fator T = 1,12; N = 6033; detecção 253 nm].

Os parâmetros de conformidade do sistema para métodos analíticos por CLAE e os limites recomendados são: resolução  $> 2,0$ ; fator de cauda  $\leq 2,0$  e número de pratos teóricos, geralmente,  $> 2000$  por coluna (U.S.FOOD..., 2000; SNYDER *et al.*, 1997).

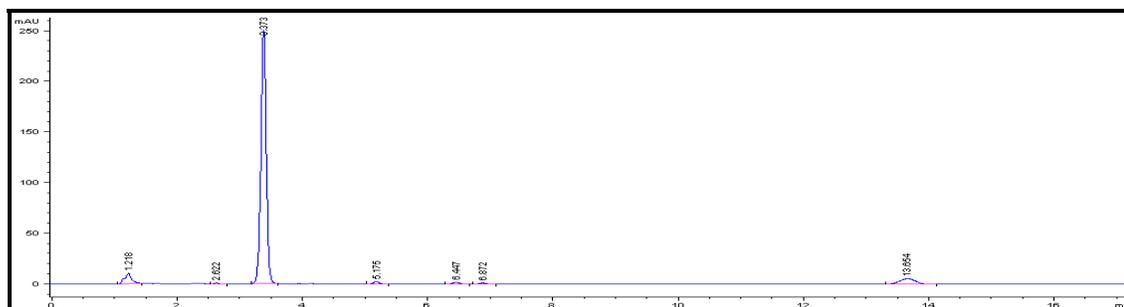
Observa-se que para as duas condições testadas os parâmetros cromatográficos de pureza de pico, tempo de corrida, fator de cauda e número de pratos teóricos são favoráveis.

#### **6.1.5.1 Seletividade**

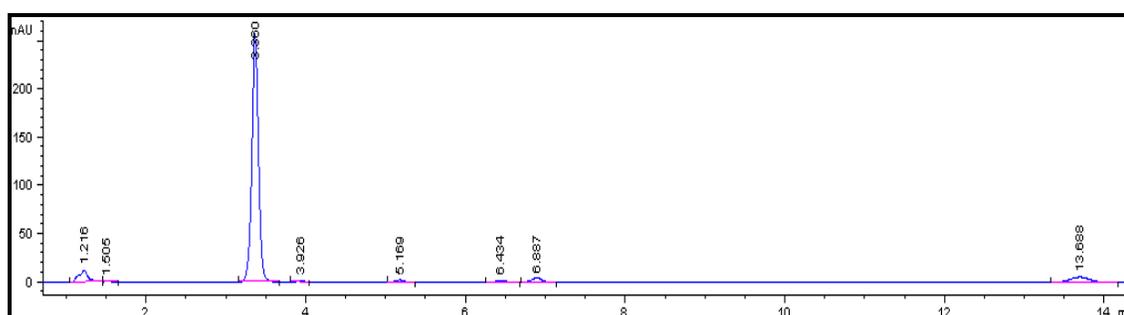
Conforme descrito por Pathare, Jadhav e Shingare (2007) não foi observada degradação de OXC quando submetida às condições de estresse tais como luz (UV 254 nm), calor (60 °C), hidrólise ácida (ácido clorídrico 0,5 mol/L) e oxidação (peróxido de hidrogênio 3%) por um período de tempo de 48 horas. Entretanto, quando submetida às condições de hidrólise básica (hidróxido de sódio 0,5 mol/L) por 48 horas, a OXC degrada-se formando a impureza C (**Quadro 3**).

A degradação forçada de OXC em comprimidos também foi realizada por Qi *et al.* (2003), submetendo-se o fármaco às seguintes condições de estresse: luz (~ 3000 lux); calor (105 e 200 °C); ácido (ácido clorídrico 6 mol/L) e base (hidróxido de sódio 6 mol/L), mantendo o fármaco sob essas condições por um período de dez dias. Com o estudo observou-se que o estresse por luz e calor (105 °C), por alta temperatura (200 °C) e por ácido e base não resultaram em degradação significativa de OXC em comprimidos.

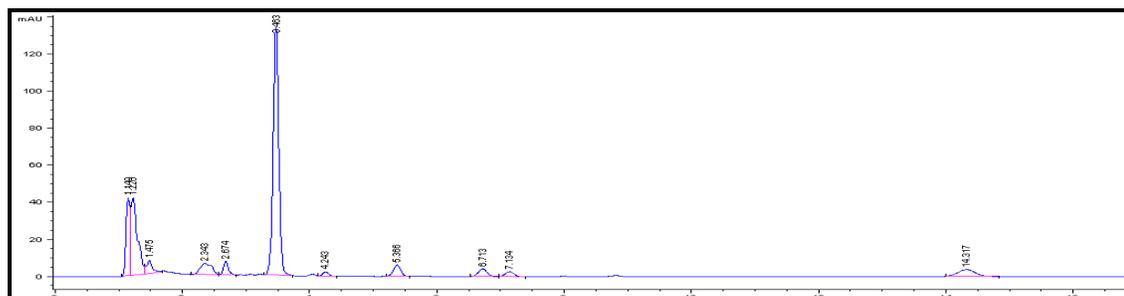
A seletividade para o doseamento de OXC por CLAE foi realizada avaliando-se a solução de OXC (50,0 µg/mL) em vários dias, consecutivos, após o preparo. Nas figuras 20, 21 e 22 estão representados os cromatogramas obtidos da avaliação da solução da OXC pelo método proposto por Qi *et al.* (2003) no terceiro dia (**Figura 20**), no quinto dia (**Figura 21**) e no décimo dia (**Figura 22**) após o preparo.



**Figura 20** - Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de Qi *et al.* (2003) três dias após preparo [fase móvel mistura de ACN, tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8) e água (36:8:56); pureza de pico 99,95%;  $t_R = 3,37$  min; fator T = 1,00; N = 7492, R = 5,28; detecção 253 nm].



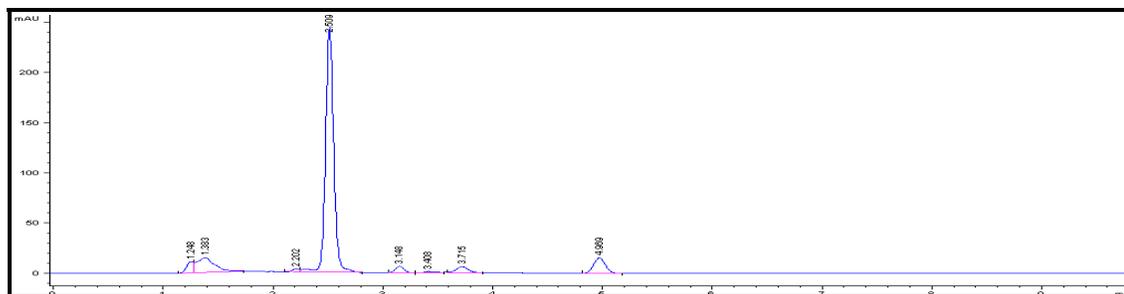
**Figura 21** - Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de Qi *et al.* (2003) cinco dias após preparo [fase móvel mistura de ACN, tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8) e água (36:8:56); pureza de pico 99,97%;  $t_R = 3,36$  min; fator T = 1,00; N = 7620, R = 11,29 e detecção 253 nm].



**Figura 22** - Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de Qi *et al.* (2003) dez dias após preparo [fase móvel mistura de ACN, tampão fosfato de potássio monobásico (pH 6,8) e água (36:8:56); pureza de pico 96,52%;  $t_R = 3,46$  min; fator T = 0,99; N = 7420, R = 5,32 e detecção 253 nm].

Com base nos cromatogramas apresentados, constata-se que OXC degrada-se em solução e sua degradação aumenta com o passar dos dias. Também, observa-se que, por esse método, o pico de OXC está resolvido em relação às suas impurezas de degradação.

A solução de OXC também foi avaliada pelo método proposto por Pathare, Jadhav e Shingare (2007) no sexto dia após o preparo (**Figura 23**).

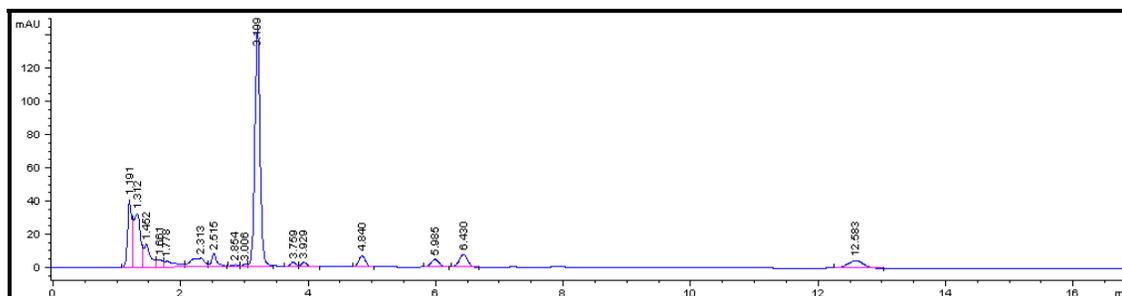


**Figura 23** - Cromatograma de OXC (50,0 µg/mL) obtido com o método de Pathare, Jadhav e Shingare (2007) seis dias após preparo [fase móvel mistura de MeOH, ACN e tampão fosfato de potássio monobásico 0,02 M (20:35:45); pureza de pico 74,95%;  $t_R$  = 2,51 min; fator T = 1,10; N = 5886 ; R = 1,94 e detecção 253 nm].

Com base no cromatograma da **Figura 23**, constata-se que o pico de OXC sofre degradação após seis dias em solução e está pouco resolvido em relação aos picos das impurezas de degradação.

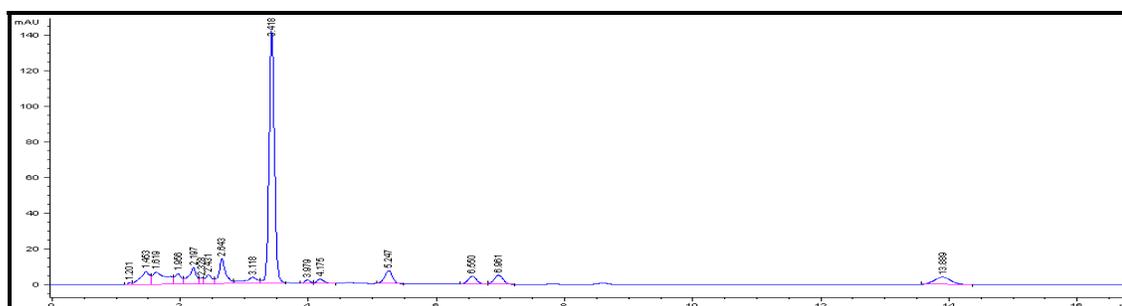
Desse modo, optou-se por adaptar e modificar o método proposto por Qi *et al.* (2003) que apresentou melhores parâmetros de pureza de pico, fator de cauda, número de pratos teóricos e resolução. Realizou-se a adaptação do método com a solução após dez dias de seu preparo. Com o intuito de melhorar a resolução de OXC em relação as suas impurezas de degradação e, também, testar outras composições da mistura da fase móvel realizou-se várias modificações nas condições propostas por Qi *et al.* (2003).

Em seguida, substituiu-se a água da fase móvel por tampão. O cromatograma obtido está representado na **Figura 24**. Observa-se, novamente, que a pureza do pico de OXC foi menor (89,61%) e que a resolução, em relação aos picos das impurezas de degradação, não melhorou ao compararmos com as condições iniciais.



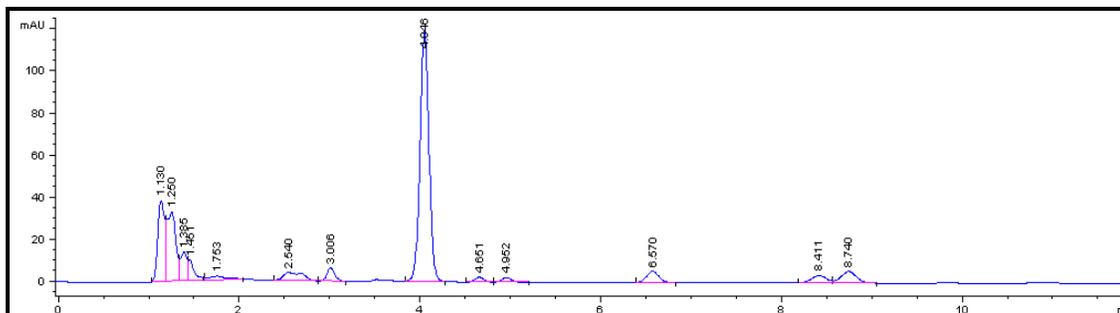
**Figura 24** - Cromatograma de OXC obtido com fase móvel ACN:tampão (36:64) [pureza de pico 89,61%;  $t_R$  = 3,20 min; fator T = 1,04; N = 7150; R = 1,84 e detecção 253 nm].

As proporções dos componentes da fase móvel foram modificadas, assim, testaram-se as proporções ACN:tampão:água (34:10:56). O cromatograma obtido (**Figura 25**) revelou que, com o aumento da proporção do solvente orgânico, houve melhora da resolução.



**Figura 25** - Cromatograma de OXC com fase móvel ACN:tampão:água (34:10:56) [pureza de pico 96,64%;  $t_R$  = 3,46 min; fator T = 1,00; N = 7343; R = 5,29 e detecção 253 nm].

Finalmente, mudou-se a proporção entre os componentes da fase móvel para ACN:tampão:água (32:12:56). O cromatograma obtido (**Figura 26**) revelou melhor resolução comparando-se com todas as mudanças que já haviam sido realizadas, pureza de pico superior a 90%, fator de cauda próximo de 1 e número de pratos teóricos superior a 2000 e, por isso, essas condições foram selecionadas para a validação do método. O método adaptado para a fase móvel ACN:tampão:água (32:12:56), possui tempo de análise adequado, eluição em modo isocrático e capacidade de separar as impurezas de degradação de OXC em solução.



**Figura 26** - Cromatograma de OXC com fase móvel ACN:tampão:água (32:12:56) [pureza de pico 99,75%;  $t_R$  = 4,05 min; fator T = 1,02; N = 7901; R = 6,12 e detecção 253 nm].

Posteriormente, realizou-se a validação do método de Qi *et al.* (2003), adaptado e modificado, e as mesmas condições cromatográficas foram utilizadas para o doseamento de OXC matéria-prima. As condições cromatográficas selecionadas estão descritas na **Tabela 27**.

**Tabela 27** - Condições cromatográficas selecionadas para o doseamento de OXC matéria-prima.

<b>Coluna cromatográfica</b>	octadecilsilano (150 x 4,6 mm; 5 $\mu$ m)
<b>Temperatura do forno</b>	30 °C
<b>Detector</b>	UV (253 nm)
<b>Fase Móvel</b>	Acetonitrila:tampão fosfato de potássio monobásico 0,02 M
<b>Fluxo</b>	1,0 mL/min
<b>Volume de injeção</b>	20 $\mu$ L

### **6.1.5.2 Linearidade**

Foi construída curva analítica para OXC a partir de onze concentrações diferentes, cada uma em triplicata. A curva obtida demonstrou relação linear entre as concentrações das soluções ( $\mu$ g/mL) e as áreas, na faixa concentração de 25,0 a 75,0  $\mu$ g/mL, que correspondem à faixa de 50 a 150% da concentração de trabalho. Na **Tabela 28**, estão apresentados os valores de concentração, suas respectivas áreas e os fatores de resposta para a avaliação da linearidade.

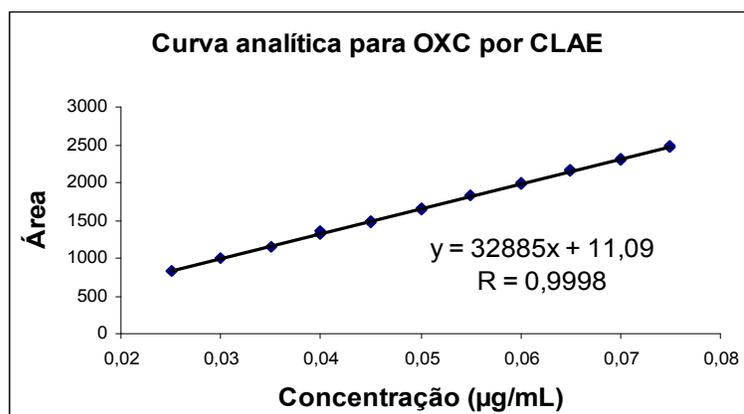
**Tabela 28** - Concentrações das soluções, áreas e fatores de resposta para a construção da curva analítica de OXC matéria-prima por CLAE.

Nível	Concentração (µg/mL)	Área	FR
50%	25,0	829,11	33164,39
	25,0	825,94	33037,44
	25,0	833,99	33359,42
60%	30,0	993,60	33120,05
	30,0	992,53	33084,43
	30,0	992,53	33084,44
70%	35,0	1159,14	33118,15
	35,0	1158,83	33109,46
	35,0	1156,42	33040,44
80%	40,0	1324,63	33115,75
	40,0	1368,35	34208,73
	40,0	1323,82	33095,55
90%	45,0	1474,42	32764,79
	45,0	1493,40	33186,65
	45,0	1492,28	33161,78
100%	50,0	1660,50	33209,97
	50,0	1648,42	32968,34
	50,0	1658,98	33179,52
110%	55,0	1829,89	33270,71
	55,0	1821,59	33119,73
	55,0	1821,82	33123,94
120%	60,0	1989,32	33155,27
	60,0	1989,45	33157,44
	60,0	1980,07	33001,20
130%	65,0	2150,63	33086,66
	65,0	2162,71	33272,52
	65,0	2112,28	33419,75
140%	70,0	2315,18	33074,04
	70,0	2301,24	32874,92
	70,0	2299,94	32856,31
150%	75,0	2463,09	32841,19
	75,0	2482,95	33105,93
	75,0	2458,56	32780,76
		<b>Média</b>	33125,75
		<b>DPR</b>	0,74

Os valores dos fatores de resposta calculados foram próximos entre si e o DPR foi inferior a 5% (0,74), indicando que existe uma possível linearidade.

O FR expressa a relação existente entre a resposta (área) e a concentração, pela razão entre as mesmas. Em uma curva analítica, os FR devem ser semelhantes entre si e próximos do valor da inclinação da reta. Calcularam-se os FR e o DPR entre eles. Recomenda-se que o DPR seja inferior a 5% (ASOCIACIÓN..., 2001).

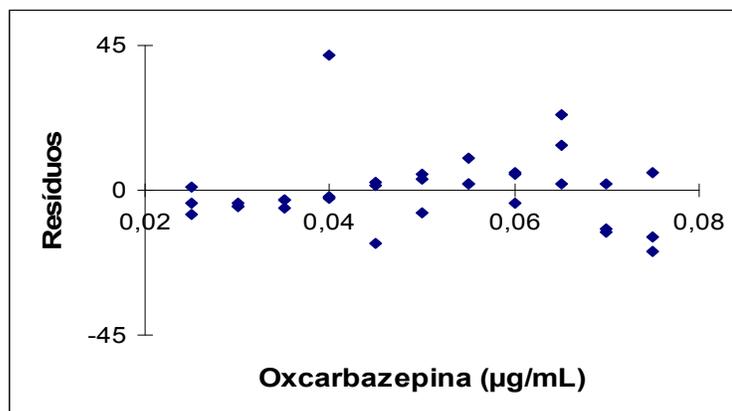
Na **Figura 27** está representada a curva analítica de OXC por CLAE e a equação da reta, calculados por regressão linear pelo método dos mínimos quadrados.



**Figura 27** – Curva analítica de OXC e equação da reta obtida para avaliação da linearidade do método para doseamento de OXC matéria-prima por CLAE.

O coeficiente de correlação foi superior a 0,999, indicando correlação linear entre as concentrações de OXC e as áreas na faixa 50 a 150% da concentração de trabalho. O intercepto não foi diferente de zero ao nível de significância de 5% ( $p > 0,05$ ).

A representação dos resíduos versus concentração de OXC permite avaliar a distribuição aleatória dos pontos (**Figura 28**).



**Figura 28** – Plotagem da distribuição dos resíduos da curva analítica para o doseamento de OXC por CLAE.

A análise de variância indica regressão linear estatisticamente significativa ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

### **6.1.5.3 Exatidão**

Para a realização da exatidão foi empregado o método da adição de padrão a matéria-prima. A exatidão foi avaliada por meio da porcentagem de recuperação de OXC nos níveis de 75%, 100% e 125% da concentração de trabalho (50,0 µg/mL). Os valores de recuperação obtidos para a determinação da exatidão estão apresentados na **Tabela 29**.

**Tabela 29** – Exatidão do método de quantificação de OXC por CLAE: porcentagens de recuperação em três níveis (75, 100 e 125% da concentração de trabalho), desvio padrão relativo e o intervalo de confiança.

Nível	Recuperação (%)
75%	100.11
100%	102.56
125%	99.84
<b>Média (%)</b>	<b>100.23</b>
<b>DPR (%)</b>	<b>0,95</b>
<b>IC* (0,95)</b>	<b>± 0,95</b>

\*IC = intervalo de confiança de 0,95.

O valor de porcentagem de recuperação média foi de 100,23 e o DPR foi de 0,95%. O valor de porcentagem de recuperação recomendado para o nível de 100% deve ser 98% a 102%. Entretanto, valores de recuperação entre 95% e 105% são aceitos para recuperação em concentrações na ordem de 0,1% (100,0 µg/mL) (CAMACHOS-SANCHES *et al.*, 1993).

#### **6.1.5.4 Precisão**

A precisão do método para doseamento de OXC por CLAE foi determinada em dois dias consecutivos de análise, obtendo-se valores de precisão intra-dia e inter-dia. Os valores dos teores de OXC e os valores de DPR (%) para avaliar as precisões estão representados na **Tabela 30**.

**Tabela 30** - Precisão intra-dia e precisão inter-dia para o doseamento de OXC por CLAE.

TEOR (%)	
1º Dia	2º Dia
98,49	98,59
97,96	98,82
97,93	100,72
99,37	101,01
98,79	100,91
99,74	100,96
<b>Média = 98,71%</b>	<b>Média = 100,17%</b>
<b>DPR intra-dia = 0,75%</b>	<b>DPR intra-dia = 1,14%</b>
<b>Média (n = 12) = (99,44 ± 0,75)%.</b>	<b>DPR inter-dia (n =12) = 1,20 %</b>

Os valores de DPR encontrados para os dois dias de precisão foram 0,75% e 1,14%, respectivamente. Estes valores são inferiores ao limite estabelecido de DPR (2,00%), o que indica que o método apresenta precisão intra-dia.

O valor de DPR para a precisão inter-dia foi de 1,20%, valor inferior ao limite estabelecido de DPR (2,00%), o que indica que o método apresenta precisão inter-dia (GREEN, 1996). O intervalo de confiança 0,95 para o teor médio nos dois dias de análise (n = 12) foi de (99,44 ± 0,75)%.

### **6.1.5.5 Robustez**

Os parâmetros variados para avaliar a robustez do método de doseamento de OXC por CLAE foram: temperatura do forno e proporção do solvente orgânico (ACN) na fase móvel. Os resultados do teor de OXC encontrados em cada condição testada estão representados na **Tabela 31**.

**Tabela 31** - Resultados do teor de OXC nas condições testadas para avaliar a robustez do método de doseamento de OXC por CLAE.

Amostra	Condições testadas				
	Nominal	25 °C	35 °C	30% ACN	34% ACN
1	101,98	101,58	99,83	101,78	101,71
2	101,53	101,88	100,64	102,00	102,45
3	101,89	101,18	100,07	100,85	101,96
4	102,27	100,39	99,59	99,06	102,47
5	101,50	99,11	100,23	102,39	101,19
6	102,01	102,19	102,74	98,54	102,03

Os resultados foram analisados por ANOVA. O valor de F calculado (2,30) foi menor que o valor de F crítico (2,76). Conclui-se que não há diferença estatisticamente significativa entre os resultados de teor obtidos em cada uma das condições testadas ( $p > 0,05$ ).

O método proposto para o doseamento de OXC por CLAE demonstrou-se seletivo, linear, exato, preciso e robusto nas condições avaliadas.

### **6.1.5.6 Limite de detecção e limite de quantificação**

O resultado encontrado para o desvio padrão da resposta e da inclinação da curva analítica foi de 6,78. Os valores calculados para limite de detecção e de quantificação foram 0,68 µg/mL e 2,06 µg/mL, respectivamente.

## **6.2 Desenvolvimento farmacotécnico de formulações magistrais para cápsulas gelatinosas duras de OXC**

### **6.2.1 Características do fármaco**

A OXC, por se tratar de um fármaco pouco solúvel em água, é disponível comercialmente na forma micronizada, com a finalidade de assegurar uma mistura mais homogênea do fármaco e excipientes e, também, aumentar a solubilidade, que está diretamente relacionada à área superficial das partículas (menor tamanho da partícula resulta em maior velocidade de dissolução).

A utilização do fármaco na forma micronizada pode prejudicar o processo de manipulação devido à baixa fluidez do material e a propensão à formação de carga estática em sua superfície, o que favorece a adesão das partículas à parede dos instrumentos utilizados na manipulação. Esse problema é agravado quando o fármaco micronizado é de alta dosagem, estando, assim, presente em alta concentração na formulação. Portanto, o desenvolvimento das formulações propostas teve como finalidade a utilização de excipientes que pudessem melhorar as propriedades de fluidez do material e minimizar a formação de carga estática, além de levar em consideração os fatores capazes de retardar ou acelerar o processo de disponibilização do fármaco no trato gastrointestinal, dentre os quais: tamanho de partícula, tempo de desintegração, dissolução, presença de excipientes hidrofóbicos e/ou hidrofílicos, propriedades físico-químicas e outras características do fármaco. Desta forma, espera-se minimizar as perdas do fármaco durante as etapas de manipulação, garantir o preenchimento uniforme das cápsulas e melhorar o perfil de dissolução do fármaco. Levando-se em consideração as características físicas e físico-químicas do pó de OXC, realizou-se planificação qualitativa e quantitativa de excipientes.

### **6.2.2 Densidades aparente e compactada**

As densidades, aparente e compactada, de OXC e da mistura de excipientes (placebo) foram realizadas com a finalidade de determinar o tamanho adequado das cápsulas para as formulações propostas. Os resultados obtidos estão apresentados na **Tabela 32**.

**Tabela 32** – Resultados das determinações das densidades, aparente e compactada, de OXC e da mistura de excipientes.

Fármaco e Placebos	Massa pesada (g)	Volume (mL)		Densidades (g/mL)	
		inicial ( $V_o$ )	final ( $V_f$ )	aparente	compactada
OXC	25,352	66,0	51,5	0,3841	0,492
Placebo	25,616	62,5	46,0	0,4098	0,557
Placebo	35,004	75,0	64,0	0,4667	0,547
Placebo	28,857	48,0	36,0	0,6012	0,802

Os resultados apresentados na **Tabela 32** demonstram que os pós de OXC apresentam baixa densidade, o que pode ser um dos fatores relacionados à sua baixa fluidez. Pode-se concluir, que das formulações propostas a Formulação 3 é a que apresenta maior densidade o que, portanto, pode contribuir em melhora da fluidez dos pós de OXC após a mistura.

As densidades compactadas do pó do fármaco e dos excipientes das formulações foram utilizadas para determinar o tamanho da cápsula, subtraindo-se do volume da cápsula escolhida o valor de volume ocupado pelo pó do fármaco calculado com base na densidade compactada. O volume não ocupado da cápsula pelo fármaco é preenchido pela mistura de excipientes conforme resultado de sua densidade compactada.

### **6.2.3 Fluidez dos pós das formulações**

Os resultados do estudo das propriedades de fluxo das formulações estão demonstrados no **Tabela 33**.

**Tabela 33** – Propriedades de fluxo das formulações desenvolvidas.

Formulações	Massa pesada (g)	Altura (H)	Raio (R)	Tang $\alpha$	$\alpha$
1	37,013	5,40	4,80	1,125	48,37
2	30,008	5,90	4,85	1,217	50,59
3	30,017	5,20	4,95	1,050	46,41

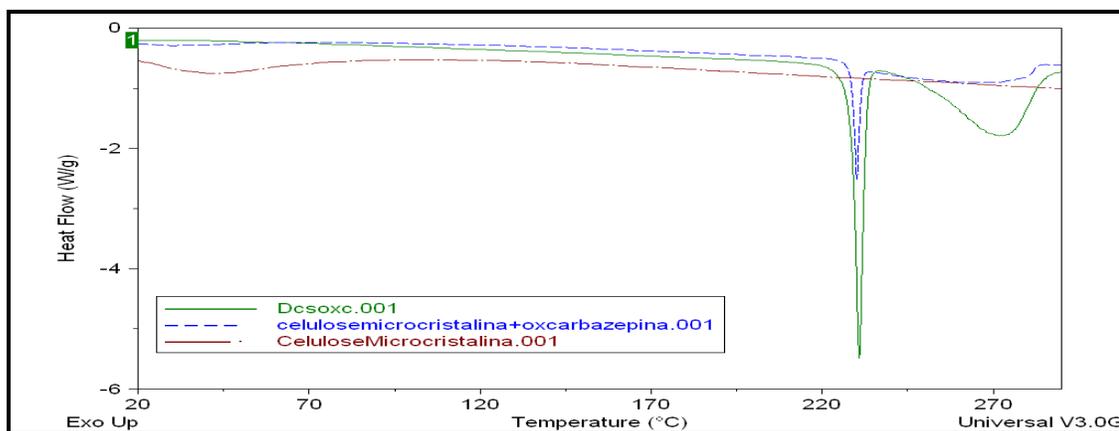
Como se pode observar, todas as formulações propostas apresentam baixa fluidez e são classificadas em relação às propriedades do fluxo como “pobre: tem que agitar, vibrar” (THE UNITED..., 2008). Provavelmente a baixa fluidez (valor de  $\alpha$  entre 46 e 55) é devido à alta concentração de OXC em cada formulação (Formulação 1: 40,5% de OXC; Formulação 2: 43%; Formulação 3: 34,9%). A Formulação 3 apresenta melhor fluidez em comparação com as demais formulações, o que pode ser explicado pelo fato da mesma conter a menor concentração de OXC (34,5%), apresentar a maior densidade e os excipientes lactose e manitol, presentes nessa formulação, apresentam índices de compressibilidade elevados (KIBBE, 2000).

### 6.3 Análise de OXC e excipientes por calorimetria exploratória diferencial

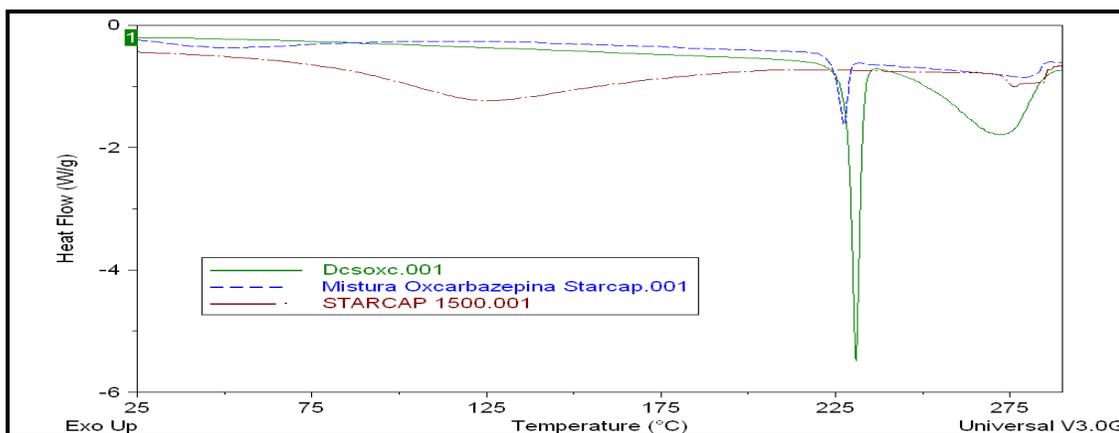
A incompatibilidade entre fármacos e excipientes pode alterar a estabilidade, a solubilidade, a taxa de dissolução e a biodisponibilidade de fármacos, bem como, comprometer a segurança e a eficácia do medicamento. No processo de desenvolvimento de formas farmacêuticas, os estudos de compatibilidade fármaco-excipiente propiciam melhor escolha dos excipientes e, assim, aumenta a probabilidade de desenvolver formas farmacêuticas mais estáveis. A Calorimetria exploratória diferencial (DSC) revela-se como uma poderosa ferramenta para estudos iniciais de pré-formulações por investigar e predizer incompatibilidades físico-químicas entre o fármaco e os excipientes farmacêuticos (GIRON, 2002).

Estudos de compatibilidade utilizando DSC foram realizados comparando-se a curva termoanalítica de OXC puro com as curvas obtidas das misturas individuais (1:1 (p/p)) de OXC com cada excipiente estudado.

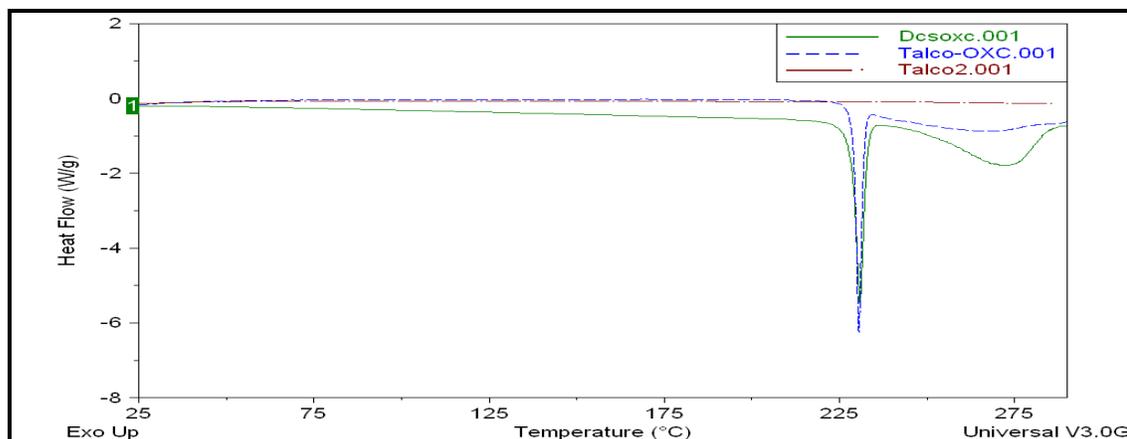
A curva termoanalítica para OXC foi demonstrada conforme 6.1.2.1. A temperatura de fusão onset foi de 221,1 °C e a temperatura de fusão no pico endotérmico foi de 230,7 °C. A curva DSC de OXC é típica de uma substância pura, apresentando um pico endotérmico estreito. As figuras 29, 30 e 31 representam as curvas termoanalíticas obtidas para OXC quando em mistura com celulose microcristalina, amido e talco, respectivamente.



**Figura 29** - Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, celulose microcristalina e mistura de OXC + celulose microcristalina (1:1).



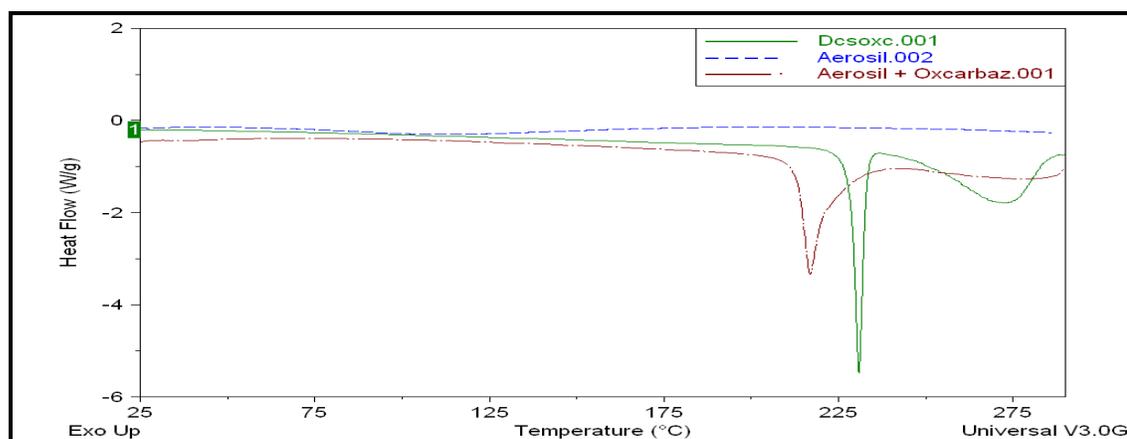
**Figura 30** - Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, amido Starcap® e mistura de OXC + amido Starcap® (1:1).



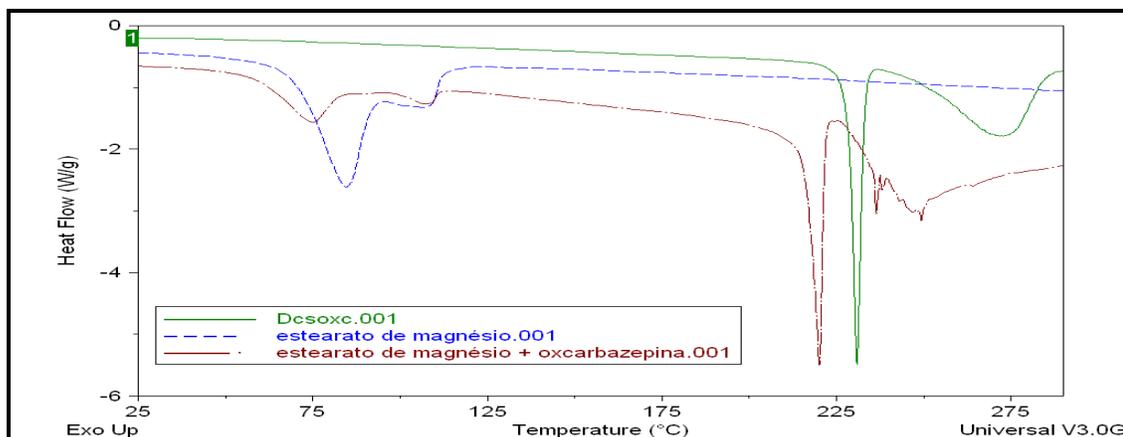
**Figura 31** - Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, talco e mistura de OXC + talco (1:1).

As curvas termoanalíticas revelam que OXC é compatível com celulose microcristalina, amido e talco, pois não ocorreram mudanças na temperatura de fusão de OXC em comparação com a curva obtida para o fármaco puro.

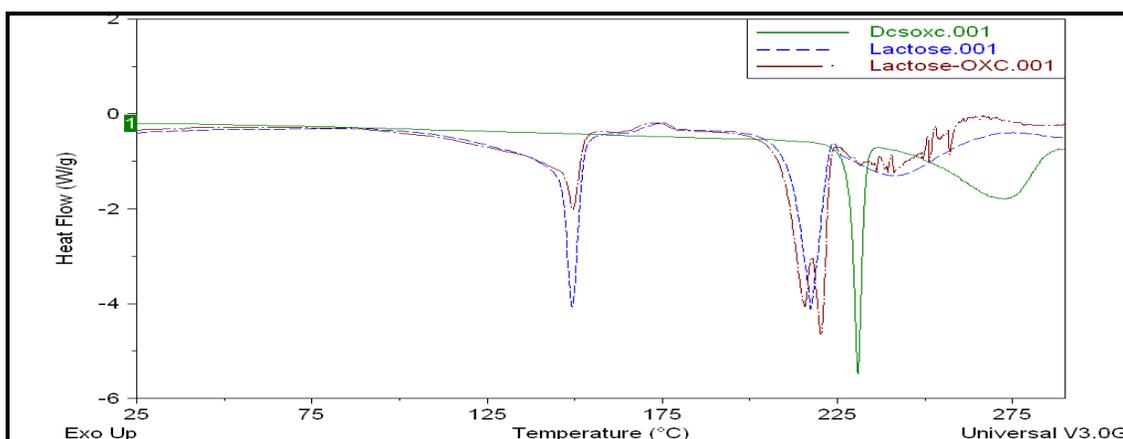
As figuras 32, 33, 34, 35 e 36 representam as curvas termoanalíticas obtidas para OXC em mistura com dióxido de silício coloidal, estearato de magnésio, lactose, manitol e LSS.



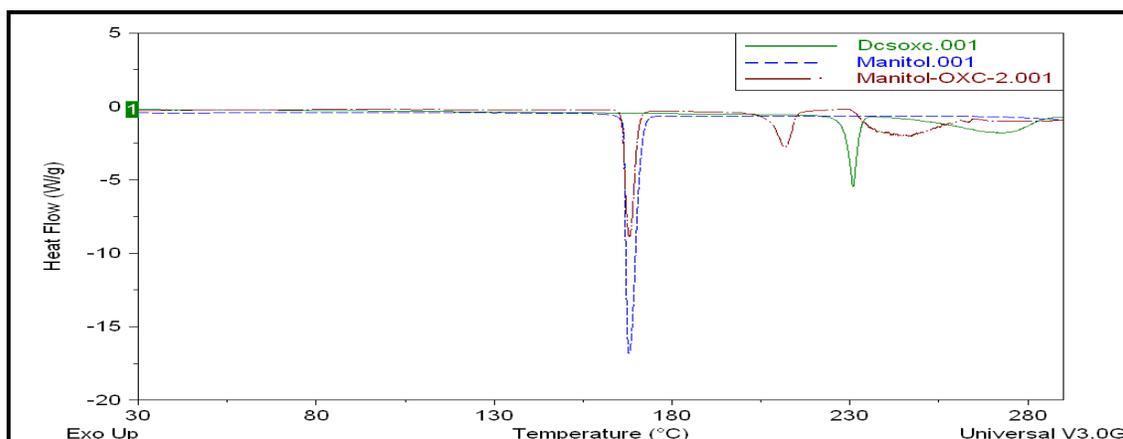
**Figura 32** - Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, dióxido de silício coloidal e mistura de OXC + dióxido de silício coloidal (1:1).



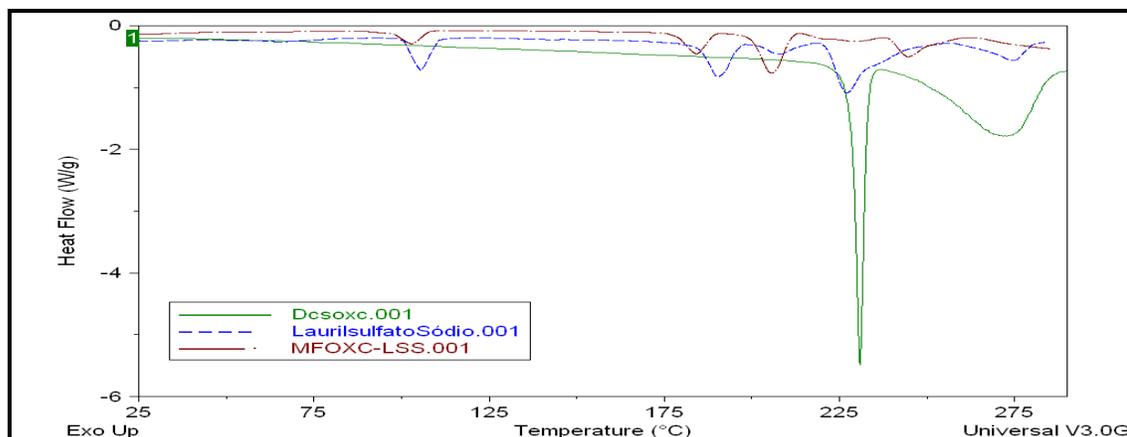
**Figura 33** - Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, estearato de magnésio e mistura de OXC + estearato de magnésio (1:1).



**Figura 34** - Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, lactose e mistura de OXC + lactose (1:1).



**Figura 35** - Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, manitol e mistura de OXC + manitol (1:1).



**Figura 36** - Curva de calorimetria exploratória diferencial de OXC matéria-prima, LSS e mistura de OXC + LSS (1:1).

Interações entre OXC e manitol, lactose monohidratada, sílica coloidal, estearato de magnésio e LSS foram observadas e a extensão dessas interações variou de um deslocamento da curva endotérmica de fusão (figuras 32, 33, 34 e 35) à supressão do pico endotérmico de fusão (**Figura 36**). Embora esses excipientes revelem interações com OXC, não se pode conclusivamente declarar que incompatibilidades serão encontradas durante o armazenamento da forma farmacêutica a temperatura ambiente, mas deve-se evitar o uso de tais excipientes juntamente com OXC antes do estudo de estabilidade da formulação. Entretanto, faz-se necessário estudo de estabilidade da formulação por, pelo menos, três meses (forma farmacêutica de uso extemporâneo) para verificar se ocorrem incompatibilidades que possam modificar as propriedades de liberação da forma farmacêutica ou reduzir o teor de OXC da formulação. A ausência do pico endotérmico de fusão na mistura de OXC com LSS pode estar relacionada à solubilização de OXC no LSS fundido (FORSTER *et al.*, 2001).

Na **Tabela 34** estão apresentadas as temperaturas de fusão onset de OXC puro e das misturas fármaco-excipientes analisadas. Não foi possível determinar a temperatura de fusão de OXC da mistura OXC e LSS devido à supressão do pico endotérmico.

**Tabela 34** – Dados de temperatura de fusão onset de OXC e OXC + excipientes por DSC.

<b>Amostra</b>	<b>Temperatura de fusão (°C)</b>
OXC	221,13
OXC:Cellulose microcristalina	223,66
OXC:Amido pré-gelatinizado	218,81
OXC:Talco	224,50
OXC:Silica coloidal	206,11
OXC:Estearato de magnésio	206,64
OXC:Lactose	199,40
OXC:Manitol	208,63
OXC:Lauril sulfato de sódio	Não determinada

#### **6.4 Controle de qualidade das cápsulas de OXC**

As análises de controle de qualidade descritas a seguir, referem-se às cápsulas obtidas após a padronização do processo de manipulação.

##### **6.4.1 Reação de identificação**

As três Formulações 1, 2 e 3 apresentaram resultado positivo para a reação com 2,4 – dinitrofenilhidrazina. Desenvolveu-se coloração alaranjada em decorrência da complexação de 2,4 – dinitrofenilhidrazina com o grupo funcional cetona presente na molécula de OXC.

##### **6.4.2 Teste de desintegração**

O teste de desintegração foi realizado de acordo com os requisitos da Farmacopéia Brasileira, 4ª edição utilizando-se seis cápsulas para cada uma das formulações (1, 2 e 3) e empregando-se água destilada, a  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , como meio de desintegração. Os tempos de desintegração das Formulações 1, 2 e 3 foram, respectivamente, 6, 7 e 5 minutos. Todas as formulações cumpriram com a

especificação da Farmacopéia Brasileira desintegrando-se completamente em tempo inferior a 45 minutos.

### **6.4.3 Determinação de peso**

Com o objetivo de comparar os resultados dos três métodos, a determinação de peso foi calculada sucessivamente pelos métodos da cápsula cheia, de acordo com a Farmacopéia Brasileira, 4ª edição; pela diferença de massa da cápsula cheia e da cápsula vazia, método adotado pela Farmacopéia Britânica 2007 e, também, pelo método descrito pelo Guia Prático da Farmácia Magistral (FERREIRA, 2002), freqüentemente utilizado pelas farmácias magistrais. Os desvios máximos e mínimos percentuais das unidades testadas em relação ao peso médio foram calculados nos três casos (tabelas 35, 36 e 37). Todos os três métodos foram avaliados de acordo com os critérios da Farmacopéia Brasileira, 4ª edição (1988) sendo que os desvios individuais devem ser de, no máximo,  $\pm 7,5\%$  para cápsulas com peso médio acima de 300 mg. Considerando a avaliação dos resultados denominaram-se os mesmos como *de acordo* ou *em desacordo* em relação aos limites de variação. Quando, no máximo, duas unidades apresentarem desvios acima dos limites de  $\pm 7,5\%$ , e as porcentagens dos desvios não ultrapassar o dobro das porcentagens indicadas ( $\pm 15,0\%$ ), o resultado será considerado *de acordo*.

**Tabela 35** - Resultados de determinação de peso conforme Farmacopéia Brasileira, 4ª edição (1988).

F*	Lotes	Peso médio (mg)	Varição máxima (%)	Varição mínima (%)	Resultados
F1	1	433,06	5,75	6,50	De acordo
	2	472,15	4,05	4,18	De acordo
F2	1	439,87	7,16	9,05	De acordo**
	2	440,51	6,04	5,84	De acordo
	3	442,29	2,70	5,02	De acordo
	4	447,36	4,06	2,70	De acordo
F3	1	531,26	5,54	4,46	De acordo
	2	529,14	5,16	3,32	De acordo

\*Formulações testadas.

\*\*Uma unidade acima de 7,5%.

**Tabela 36** - Resultados de determinação de peso conforme Farmacopéia Britânica 2007.

F*	Lotes	Peso médio (mg)	Variação máxima (%)	Variação mínima (%)	Resultados
F1	1	334,25	7,84	7,78	De acordo***
	2	371,46	4,93	5,51	De acordo
F2	1	340,69	9,28	8,62	De acordo***
	2	339,92	7,56	6,33	De acordo**
	3	344,47	3,88	6,28	De acordo
	4	347,06	5,95	2,87	De acordo
F3	1	432,31	7,20	4,87	De acordo
	2	430,50	5,67	3,99	De acordo

\*Formulações testadas.

\*\*Uma unidade acima de 7,5%.

\*\*\*Duas unidades acima de 7,5%.

**Tabela 37** - Resultados de determinação de peso conforme Guia Prático da Farmácia Magistral.

F*	Lotes	Peso médio (mg)	Variação máxima (%)	Variação mínima (%)	Resultados
F1	1	332,37	7,49	8,46	De acordo**
	2	371,46	5,14	5,32	De acordo
F2	1	339,18	9,29	11,74	De acordo***
	2	339,82	7,83	7,56	De acordo***
	3	341,61	3,49	6,50	De acordo
	4	346,67	5,23	3,49	De acordo
F3	1	430,57	6,83	5,50	De acordo
	2	339,82	7,83	7,56	De acordo***

\*Formulações testadas.

\*\*Uma unidade acima de 7,5%.

\*\*\*Duas unidades acima de 7,5%.

Analisando os resultados, os desvios encontrados para o método sugerido por Ferreira (2002) foram maiores do que os desvios encontrados para os métodos das Farmacopéias Brasileira e Britânica. Observa-se que pelo método descrito pela Farmacopéia Brasileira, 4ª edição, apenas um lote de uma formulação (Formulação 2, lote 1) possui uma unidade acima da variação de  $\pm 7,5\%$ . Pelo método da Farmacopéia Britânica 2007, duas formulações (Formulação 1, lote 1 e Formulação 2, lote 1) possuem duas unidades acima da variação de  $\pm 7,5$  e um lote (Formulação 2,

lote 2) possui uma unidade acima da variação preconizada. Pelo método sugerido por FERREIRA (2002), dois lotes da mesma formulação (Formulação 2, lote 1 e lote 2) e um lote da Formulação 3 (lote 2) possuem duas unidades acima da variação de  $\pm 7,5\%$  e, uma formulação (Formulação 1, lote 1) possui uma unidade acima da variação preconizada. Nenhuma das formulações, dos três métodos analisados, apresentou mais que duas unidades fora dos limites de variação especificados e, quando duas unidades possuíam valores de variação superiores aos limites  $\pm 7,5\%$ , nenhuma unidade possuía variações superiores a  $\pm 15,0\%$ .

O método sugerido pela Farmacopéia Brasileira não foi capaz de detectar todos os lotes e todas as unidades que possuíam variações de peso superiores a  $\pm 7,5\%$  quando comparado com o método da Farmacopéia Britânica. O método do Guia detectou variações superiores a  $\pm 7,5\%$  em todos os lotes em que o método da Farmacopéia Britânica foi capaz de detectar, porém, o número de unidades cuja variação foi superior ao limite preconizado não foi coincidente entre os dois métodos. O método do Guia detectou variações superiores a  $\pm 7,5\%$  em uma formulação (Formulação 3, lote 2) cujos métodos farmacopéicos não foram capazes de detectar. O método sugerido pela Farmacopéia Britânica 2007 é o mais seguro e confiável para a determinação do peso médio, pois são considerados, individualmente para cada cápsula, os valores em massa do conteúdo e da cápsula vazia.

O método sugerido pelo Guia não reproduz com exatidão as porcentagens de variações, pois há variação nas massas individuais das cápsulas vazias (2,74% para as cápsulas testadas). Desse modo, a massa da cápsula vazia (invólucro) poderá mascarar um resultado *em desacordo*. Também, o método pelo Guia não prevê o reteste da determinação de peso.

Considerando que as farmácias magistrais manipulam em pequena escala e para cada formulação prescrita é dedicado um tempo individual de preparo, o método sugerido pela Farmacopéia Britânica (método mais adequado) seria inviável, por se tratar de um método destrutivo.

Todos os processos de determinação de peso de cápsulas encontrados em literatura são processos para produtos industrializados. Sendo assim, para produtos

manipulados encontram-se dificuldades, pois o número de cápsulas manipuladas pode ser menor que vinte unidades e, nesses casos, os limites de variação de peso não se aplicam. Assim, sugere-se que a Farmacopéia Brasileira preconize um método de determinação de peso para o processo magistral, estatisticamente confiável e viável de ser executado, que considere as peculiaridades existentes nesse setor farmacêutico.

Paralelamente, recomenda-se exigir padrões mínimos de qualidade para as cápsulas utilizadas na manipulação como, por exemplo, estabelecer limites para a variação de peso das cápsulas gelatinosas duras vazias e, assim, qualificar um fornecedor confiável.

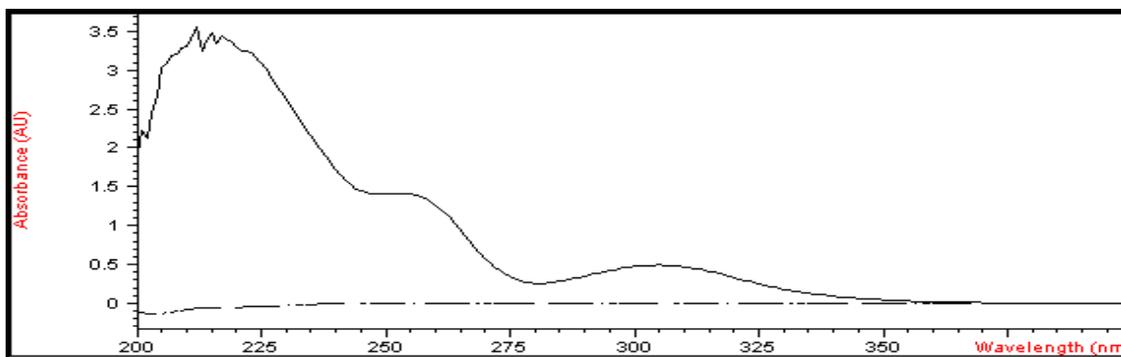
#### **6.4.4 Validação de método analítico por espectrofotometria no UV para quantificação de OXC em cápsulas manipuladas**

##### **6.4.4.1 Seletividade**

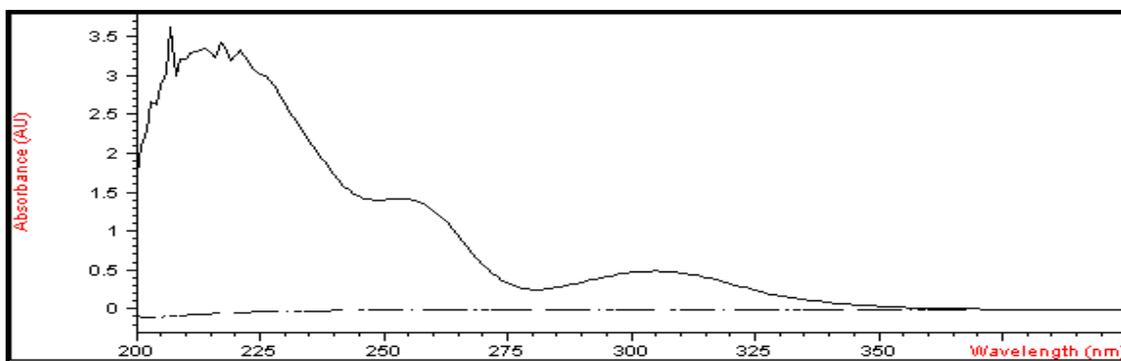
A seletividade foi avaliada traçando-se o espectro dos placebos de cada formulação e determinando-se o quanto cada placebo interfere na resposta de absorvância no UV da *solução padrão de trabalho de OXC* (**Tabela 38**). Os espectros dos placebos também foram sobrepostos ao espectro de OXC para comparação visual da interferência (figuras 37, 38 e 39).

**Tabela 38** - Valores de absorvância das soluções de OXC e dos placebos em 305 nm, e as porcentagens de interferência das soluções dos placebos na resposta de OXC.

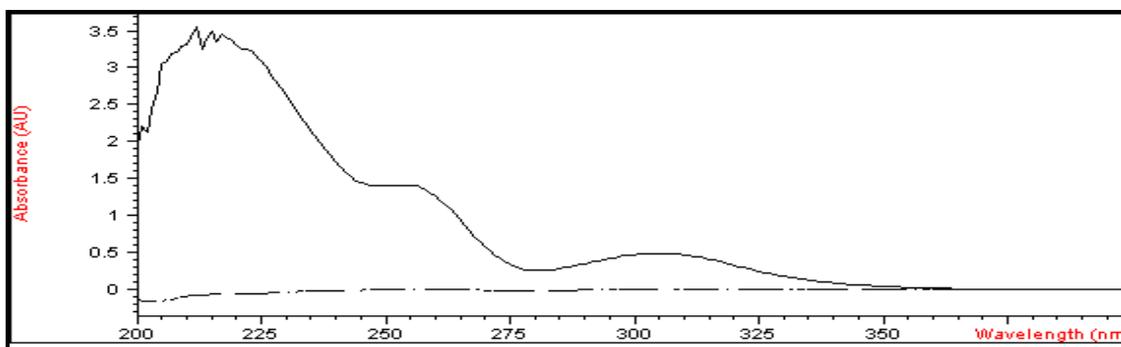
<b>OXC e placebos</b>	<b>Absorvância em 305 nm</b>	<b>% interferência</b>
OXC (49,98 µg/mL)	0,49129	100
Formulação 1	0,00023	0,046
Formulação 2	0,00000	Não absorveu
Formulação 3	0,00000	Não absorveu



**Figura 37** - Sobreposição dos espectros de absorção na região UV da *solução placebo* da Formulação 1 (----) e da *solução padrão de trabalho de OXC* (—), em metanol, na faixa 200 nm a 400 nm.



**Figura 38** - Sobreposição dos espectros de absorção na região UV da *solução placebo* da Formulação 2 (----) e da *solução padrão de trabalho de OXC* (—), em metanol, na faixa 200 nm a 400 nm.



**Figura 39** - Sobreposição dos espectros de absorção na região UV da *solução placebo* da Formulação 3 (----) e da *solução padrão de trabalho de OXC* (—), em metanol, na faixa 200 nm a 400 nm.

Observando-se os resultados (**Tabela 38** e figuras 37, 38, 39) pode-se afirmar que as *soluções placebo* das três formulações não interferem na resposta de absorvância de OXC. Assim, o método espectrofotométrico para a quantificação de

OXC é seletivo em relação aos excipientes presentes em cada formulação das cápsulas de OXC.

#### **6.4.4.2 Precisão**

A precisão do método para doseamento de OXC no UV foi determinada em dois dias consecutivos de análises, obtendo-se os valores de precisão intra-dia e inter-dia. Os valores dos teores de OXC determinados nas cápsulas para as três formulações e os valores de DPR (%) para avaliar as precisões (intra-dia e inter-dia) estão representados nas tabelas 39, 40 e 41.

**Tabela 39** - Precisão intra-dia e precisão inter-dia para o doseamento de OXC nas cápsulas da Formulação 1 por espectrofotometria de absorção na região UV.

<b>TEOR (%)</b>	
<b>1º Dia</b>	<b>2º Dia</b>
99,71	99,02
100,80	99,37
99,07	98,34
98,29	98,16
98,66	99,05
97,38	98,86
<b>Média = 98,98</b>	<b>Média = 98,80</b>
<b>DPR intra-dia = 1,19%</b>	<b>DPR intra-dia = 0,46%</b>
<b>DPR inter-dia = 0,87%</b>	

Os valores de DPR encontrados para os dois dias de precisão foram 1,19% e 0,46%, respectivamente. Estes valores são inferiores ao limite estabelecido de DPR (2,00%), o que indica que o método apresenta precisão intra-dia (GREEN, 1996). O valor de DPR para a precisão inter-dia foi 0,87%, valor inferior a 2,00%, o que indica que existe precisão inter-dia (GREEN, 1996). O intervalo de confiança 0,95 para o teor médio nos dois dias de análises (n = 12) foi (98,89 ± 0,55)%.

**Tabela 40** - Precisão intra-dia e precisão inter-dia para o doseamento de OXC nas cápsulas da Formulação 2 por espectrofotometria de absorção na região UV.

TEOR (%)	
1º Dia	2º Dia
95,37	96,16
93,94	95,43
96,75	95,91
96,36	95,84
96,63	94,93
96,82	94,90
<b>Média = 95,98</b>	<b>Média = 95,53</b>
<b>DPR intra-dia = 1,18%</b>	<b>DPR intra-dia = 0,55%</b>
<b>DPR inter-dia = 0,91%</b>	

Os valores de DPR encontrados para os dois dias de precisão foram 1,18% e 0,55%, respectivamente. Estes valores são inferiores ao limite estabelecido de DPR (2,00%), o que indica que o método apresenta precisão intra-dia (GREEN, 1996). O valor de DPR para a precisão inter-dia de 0,91%, valor inferior a 2,00%, o que indica que existe precisão inter-dia (GREEN, 1996). O intervalo de confiança 0,95 para o teor médio nos dois dias de análises (n = 12) foi (95,75 ± 0,56)%.

**Tabela 41** - Precisão intra-dia e precisão inter-dia para o doseamento de OXC nas cápsulas da Formulação 3 por espectrofotometria de absorção na região UV.

TEOR (%)	
1º Dia	2º Dia
102,13	101,84
99,72	98,80
99,09	101,35
100,79	102,37
100,59	99,44
100,51	99,11
<b>Média = 100,47</b>	<b>Média = 100,48</b>
<b>DPR intra-dia = 1,03%</b>	<b>DPR intra-dia = 1,54%</b>
<b>DPR inter-dia = 1,25%</b>	

Os valores de DPR encontrados para os dois dias de precisão foram 1,03% e 1,54%, respectivamente. Estes valores são inferiores ao limite estabelecido de DPR (2,00%), o que indica que o método apresenta precisão intra-dia (GREEN, 1996). O valor de DPR para a precisão inter-dia foi 1,25%, valor inferior a 2,00%, o que indica

que existe precisão inter-dia (GREEN, 1996). O intervalo de confiança 0,95 para o teor médio nos dois dias de análises ( $n = 12$ ) foi  $(100,48 \pm 0,80)\%$ .

#### **6.4.4.3 Exatidão**

Para a realização da exatidão foi empregado o método do placebo contaminado, utilizando placebos de cada uma das três formulações estudadas. A exatidão foi avaliada por meio da porcentagem de recuperação de OXC nos níveis 80%, 100% e 120% da concentração de trabalho da *solução amostra das cápsulas* (50,0  $\mu\text{g/mL}$ ), em triplicata. Os valores de recuperação obtidos para a determinação de exatidão em relação às formulações estão apresentados nas tabelas 42, 43 e 44.

**Tabela 42** – Exatidão do método de espectrofotometria de absorção na região UV para a quantificação de OXC em cápsulas da Formulação 1: porcentagens de recuperação em três níveis (80, 100 e 120% da concentração de trabalho) e desvio padrão relativo.

Nível	Recuperação (%)	Média	DPR (%)
80	99,24	100,05	0,79
	100,81		
	100,11		
100	100,14	100,91	1,42
	100,01		
	102,56		
120	100,17	100,17	0,33
	100,51		
	99,84		
<b>Recuperação média (%)</b>			100,38
<b>DPR (%)</b>			0,92
<b>Intervalo de confiança 0,95</b>			$\pm 0,71$

O valor de porcentagem de recuperação média para a Formulação 1 foi  $100,38 \pm 0,71$  e o DPR foi 0,92%. Os valores de porcentagem de recuperação estão entre 98% e 102% e os valores de DPR abaixo de 2,00%. O valor de t calculado (1,23) foi menor que o valor de t tabelado (2,31) para 8 graus de liberdade e nível de significância 5% ( $\alpha < 0,05$ ), o que indica que não existe diferença estatisticamente significativa entre o valor de recuperação médio ( $n = 9$ ) e o valor de recuperação

de 100%. Assim, conclui-se que o método espectrofotométrico no UV apresenta exatidão adequada para quantificação de OXC em cápsulas gelatinosas duras contendo os excipientes presentes na Formulação 1.

**Tabela 43** – Exatidão do método de espectrofotometria de absorção na região UV para a quantificação de OXC em cápsulas da Formulação 2: porcentagens de recuperação em três níveis (80, 100 e 120% da concentração de trabalho) e desvio padrão relativo.

Nível	Recuperação (%)	Média	DPR (%)
80	99,54	99,99	0,39
	100,17		
	100,26		
100	99,47	99,35	0,23
	99,10		
	99,49		
120	100,41	100,78	0,41
	101,22		
	100,70		
<b>Recuperação média (%)</b>			100,04
<b>DPR (%)</b>			0,69
<b>Intervalo de confiança 0,95</b>			± 0,53

O valor de porcentagem de recuperação média para a Formulação 2 foi  $100,04 \pm 0,53$  e o DPR foi 0,69%. Os valores de porcentagem de recuperação estão entre 98% e 102% e os valores de DPR abaixo de 2,00%. O valor de t calculado (0,17) foi menor que o valor de t tabelado (2,31) para 8 graus de liberdade e nível de significância 5% ( $\alpha < 0,05$ ), o que indica que não existe diferença estatisticamente significativa entre o valor de recuperação médio ( $n = 9$ ) e o valor de recuperação de 100%. Assim, conclui-se que o método espectrofotométrico no UV apresenta exatidão adequada para quantificação de OXC em cápsulas gelatinosas duras contendo os excipientes presentes na Formulação 2.

**Tabela 44** – Exatidão do método de espectrofotometria de absorção na região UV para a quantificação de OXC em cápsulas da Formulação 3: porcentagens de recuperação em três níveis (80, 100 e 120% da concentração de trabalho) e desvio padrão relativo.

Nível	Recuperação (%)	Média	DPR (%)
80	100,43	100,51	0,43
	100,97		
	100,12		
100	98,89	99,18	0,63
	99,91		
	98,75		
120	99,08	99,10	0,05
	99,15		
	99,06		
<b>Recuperação média (%)</b>			99,60
<b>DPR (%)</b>			0,79
<b>Intervalo de confiança 0,95</b>			0,61

O valor de porcentagem de recuperação média para a Formulação 3 foi  $99,60 \pm 0,61$  e o DPR foi 0,79%. Os valores de porcentagem de recuperação estão entre 98% e 102% e os valores de DPR abaixo de 2,00%. O valor de t calculado (1,54) foi menor que o valor de t tabelado (2,31) para 8 graus de liberdade e nível de significância 5% ( $\alpha < 0,05$ ), o que indica que não existe diferença estatisticamente significativa entre o valor de recuperação médio ( $n = 9$ ) e o valor de recuperação de 100%. Assim, conclui-se que o método espectrofotométrico no UV apresenta exatidão adequada para quantificação de OXC em cápsulas gelatinosas duras contendo os excipientes presentes na Formulação 3.

#### **6.4.5 Doseamento realizado em diferentes partes da encapsuladeira**

Os resultados do doseamento das cápsulas, de cada uma das formulações, retiradas das cinco partes da encapsuladeira (superior direita e esquerda, inferior direita e esquerda e centro) encontram-se descritos na **Tabela 45**.

**Tabela 45** – Resultados do doseamento das cápsulas em diferentes partes da encapsuladeira.

Partes da encapsuladeira	Teor (%)		
	Formulação 1 (lote 2)	Formulação 2 (lote 4)	Formulação 3 (lote 2)
Direita superior	100,37	95,72	100,22
Direita inferior	99,05	96,63	99,63
Esquerda superior	101,33	97,11	100,01
Esquerda inferior	98,44	95,37	99,00
Centro	98,98	95,83	99,23
<b>Média</b>	99,63	96,13	99,62
<b>DPR (%)</b>	1,19	0,75	0,51
<b>IC 0,95</b>	± 1,47	± 0,89	± 0,64

Os DPR obtidos para cada uma das três formulações possuem valores inferiores a 2,00%, o que indica que há concordância (baixo grau de dispersão) entre os valores de teores nos vários pontos da encapsuladeira onde foram retiradas as amostras. Por conseguinte, os valores de DPR evidenciam a distribuição homogênea do pó na encapsuladeira durante a manipulação pela técnica proposta conforme **5.2.6**.

Adotou-se a especificação 95,0% a 105,0% para teor de OXC em cápsulas, considerando-se que o fármaco é de baixo índice terapêutico e, por isso, a faixa de especificação deve ser estreita.

#### **6.4.6 Uniformidade de doses unitárias por uniformidade de conteúdo**

Calculou-se, individualmente, o teor em porcentagem de OXC para cada unidade testada para as Formulações 1, 2 e 3. Na **Tabela 46** estão apresentados os valores de teor de OXC obtidos por uniformidade de conteúdo das cápsulas manipuladas de OXC.

**Tabela 46** - Valores de teor em porcentagem de OXC obtidos no teste de uniformidade de conteúdo das cápsulas manipuladas utilizando-se o método de doseamento por espectrofotometria de absorção na região UV para as Formulações 1, 2 e 3.

Unidades	Formulações (teor %)		
	1 (lote 2)	2 (lote 4)	3 (lote 2)
1	102,70	96,72	95,66
2	95,67	95,27	90,31
3	101,51	98,12	100,86
4	93,82	96,14	100,51
5	99,01	95,02	98,31
6	94,18	92,28	98,45
7	95,85	92,77	96,32
8	98,61	96,77	96,62
9	104,20	89,16	99,58
10	99,70	92,30	97,63
<b>Média</b>	98,52	94,45	97,43
<b>DPR (%)</b>	3,65	2,91	3,13

Os valores de teor de OXC em todas as unidades testadas, nas três formulações, ficaram dentro dos limites de 85,0% a 115,0% do valor declarado e o DPR foi inferior a 6,0%. As cápsulas manipuladas cumprem com as especificações da Farmacopéia Brasileira 4<sup>a</sup> edição para uniformidade de conteúdo.

O resultado do teste de uniformidade de conteúdo nos permite avaliar se a quantidade de fármaco em cada unidade testada está próxima do teor declarado (150 mg). Concluiu-se, portanto, que a distribuição de OXC foi uniforme em diferentes unidades dos lotes das formulações testadas, o que evidencia a distribuição homogênea do pó na encapsuladeira durante a manipulação pela técnica proposta conforme **5.2.6**.

## 6.5 Teste de dissolução

### **6.5.1 Condições de esgotamento (sink conditions)**

O uso de aparatos como cestas, pás e cilindros recíprocos, geralmente, baseia-se no princípio de operação em condições de esgotamento, isto é, em condições tais que

o material que já está solubilizado não exerça uma modificação significativa na taxa de dissolução do material remanescente. As condições de esgotamento normalmente ocorrem em um volume de meio de dissolução três a dez vezes maiores que o volume necessário para obter solução saturada do fármaco (BRITISH..., 2007). Sob condições de esgotamento a concentração de um fármaco pouco solúvel no meio de dissolução é essencialmente constante.

As concentrações de LSS foram avaliadas visando determinar a menor concentração de tensoativo capaz de proporcionar as condições de esgotamento. Considerando-se que as condições de esgotamento para OXC correspondem à capacidade de solubilização de, no mínimo, 0,5 mg de OXC por mililitro de meio de dissolução (150 mg de OXC em 300 mL de meio), as três concentrações das soluções de LSS (0,5%, 1,0% e 1,5% p/V) atenderam as condições de esgotamento e as solubilidades determinadas foram, respectivamente, 0,5313 mg/mL, 1,0785 mg/mL e 1,4539 mg/mL.

### **6.5.2 Perfis de dissolução de cápsulas de OXC**

Velocidades de agitação fora dos limites de 25 a 150 rpm são, geralmente, inapropriados por causa da instabilidade da hidrodinâmica abaixo de 25 rpm e por causa da turbulência em agitação maior que 150 rpm. Para formas farmacêuticas de liberação imediata tipicamente há aumento gradual da liberação do fármaco de 85% a 100% em cerca de 30 a 45 minutos. Desse modo, pontos de coleta em 15, 20, 30, 45 e 60 minutos são usuais para formas farmacêuticas de liberação imediata (THE UNITED..., 2008)

Para o desenvolvimento do teste de dissolução para as cápsulas de OXC avaliaram-se, primordialmente, as propriedades físicas e químicas do princípio ativo: o pKa e a solubilidade. A OXC é uma base fraca ( $pK_a = 10,7$ ), estando a molécula completamente protonada na faixa pH de 1,0 a 6,8 (pH fisiológico) (U.S. FOOD..., 1997). Por isso, a variação de pH não contribui para aumentar a solubilidade do fármaco, pois todas as moléculas estão protonadas em pH abaixo de 10,7. Desse modo, meios de dissolução, como ácido clorídrico 0,1 mol/L e soluções tampões, cujo

pH poderia ser fator limitante da solubilidade para outros fármacos, não foram incluídos nos testes de dissolução para OXC.

A escolha das cestas deve-se ao fato de que as mesmas permitem que as cápsulas fiquem submersas durante todo o período do teste no meio de dissolução, uma vez que evita a flutuação das cápsulas.

Os perfis de dissolução foram realizados utilizando-se seis unidades das cápsulas manipuladas contendo 150 mg de OXC e os gráficos dos perfis foram traçados utilizando-se os valores da média da quantidade de OXC liberada das seis unidades nos intervalos de tempo de 5, 10, 15, 30 e 45 minutos.

Os dados da quantidade média de OXC liberada em cada tempo de coleta estão representados nas tabelas 47, 48 e 49.

**Tabela 47** – Valores médios e DP das médias (n = 6) dos perfis de dissolução de cápsulas de OXC para a Formulação 1, variando-se os parâmetros meios de dissolução e velocidades de agitação das cestas a 75 rpm e 100 rpm.

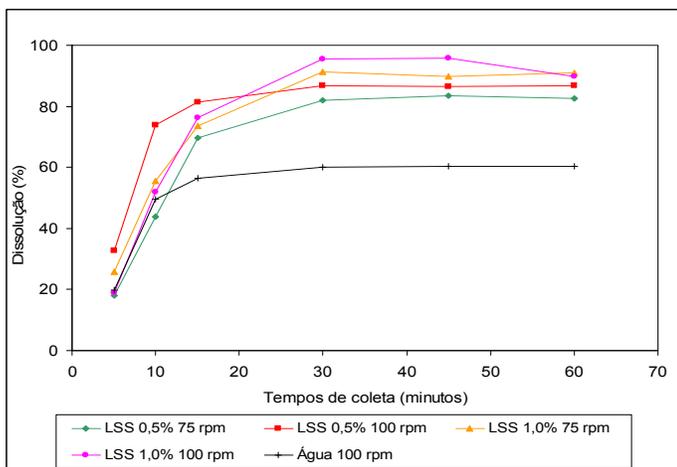
Meios	% Dissolvida de OXC (DP%, n = 6)				
	LSS 0,5%		LSS 1,0%		Água
Tempos (min)	75 rpm	100 rpm	75 rpm	100 rpm	100 rpm
5	17,91 (9,01)	32,84 (13,54)	25,81 (17,91)	18,81 (16,17)	19,92 (6,29)
10	43,91 (14,98)	73,83 (8,22)	55,47 (27,76)	51,83 (31,77)	49,48 (2,50)
15	69,72 (12,99)	81,38 (7,12)	73,68 (26,21)	76,42 (16,55)	56,47 (0,54)
30	82,08 (2,21)	86,73 (4,21)	91,28 (3,40)	95,40 (2,52)	60,21 (1,40)
45	83,50 (3,12)	86,44 (3,45)	89,88 (3,24)	95,75 (3,31)	60,42 (0,69)
60	82,46 (2,86)	86,78 (4,24)	90,98 (4,20)	89,71 (3,60)	60,45 (0,89)

**Tabela 48** – Valores médios e DP das médias (n = 6) dos perfis de dissolução de cápsulas de OXC para a Formulação 2, variando-se os parâmetros meios de dissolução e velocidades de agitação das cestas a 75 rpm e 100 rpm.

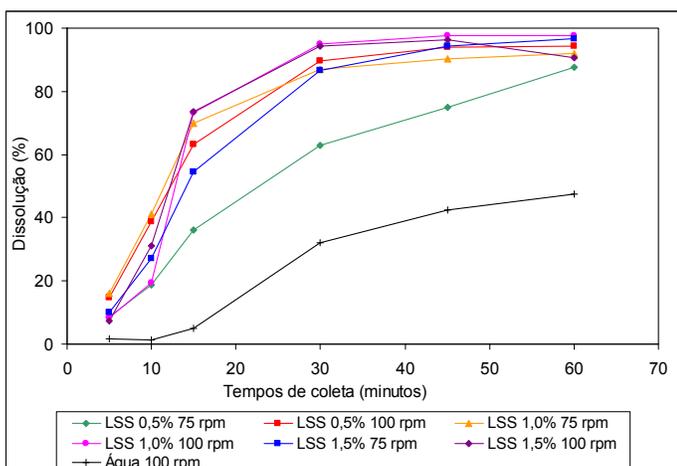
Meios	% Dissolvida de OXC (DP%, n = 6)						
	LSS 0,5%		LSS 1,0%		LSS 1,5%		Água
Tempos (min)	75 rpm	100 rpm	75 rpm	100 rpm	75 rpm	100 rpm	100 rpm
5	8,85 (6,53)	14,80 (13,61)	16,05 (11,84)	8,20 (13,46)	10,01 (8,25)	7,43 (10,30)	1,57 (0,60)
10	18,83 (13,59)	38,63 (16,63)	41,20 (21,16)	19,34 (17,52)	27,25 (13,80)	31,08 (15,12)	1,22 (0,79)
15	36,25 (15,69)	63,14 (26,27)	69,81 (13,50)	73,14 (13,63)	54,40 (19,89)	73,63 (20,55)	5,18 (5,14)
30	62,74 (28,49)	89,68 (12,30)	86,90 (9,90)	95,12 (6,75)	86,67 (10,06)	94,16 (8,73)	32,20 (4,74)
45	74,76 (23,57)	93,91 (4,29)	90,42 (6,79)	97,53 (3,15)	94,31 (6,29)	96,22 (2,67)	42,54 (3,61)
60	87,64 (11,02)	94,41 (5,49)	92,05 (6,34)	97,75 (2,68)	96,60 (4,73)	90,77 (1,51)	47,57 (3,76)

**Tabela 49** – Valores médios e DP das médias (n = 6) dos perfis de dissolução de cápsulas de OXC para a Formulação 3, variando-se os parâmetros meios de dissolução e velocidades de agitação das cestas a 75 rpm e 100 rpm.

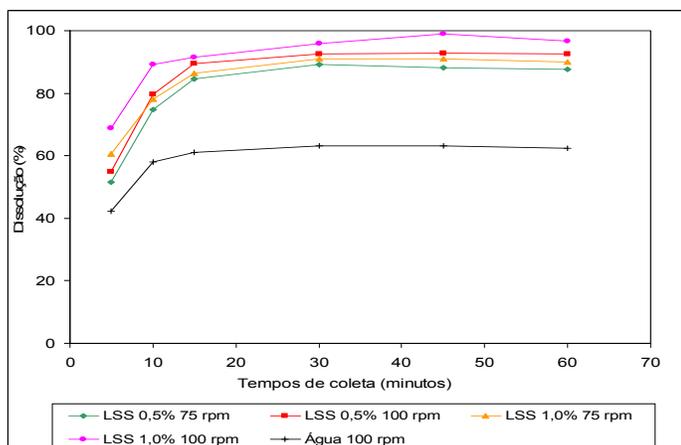
Meios	% Dissolvida de OXC (DP%, n = 6)				
	LSS 0,5%		LSS 1,0%		Água
Tempos (min)	75 rpm	100 rpm	75 rpm	100 rpm	100 rpm
5	51,47 (9,04)	54,89 (17,17)	60,64 (13,36)	68,84 (9,15)	42,19 (3,22)
10	74,63 (9,97)	79,72 (11,64)	78,19 (13,87)	89,11 (7,71)	57,97 (0,91)
15	84,44 (3,71)	89,41 (9,93)	86,40 (5,52)	91,61 (6,70)	61,19 (1,94)
30	89,28 (4,19)	92,44 (6,99)	90,85 (2,82)	95,75 (3,67)	63,22 (0,93)
45	88,16 (2,83)	92,86 (3,24)	90,92 (2,09)	99,00 (3,15)	63,23 (0,51)
60	87,55 (2,41)	92,49 (3,76)	90,00 (3,12)	96,75 (3,61)	62,27 (3,94)



**Figura 40** – Perfis de dissolução de cápsulas manipuladas contendo 150 mg de OXC em diferentes meios de dissolução para a Formulação 1.



**Figura 41** – Perfis de dissolução de cápsulas manipuladas contendo 150 mg de OXC em diferentes meios de dissolução para a Formulação 2.



**Figura 42** – Perfis de dissolução de cápsulas manipuladas contendo 150 mg de OXC em diferentes meios de dissolução para a Formulação 3.

Os resultados obtidos para os perfis de dissolução em diferentes meios para as Formulações 1, 2 e 3 estão representados nas figuras 40, 41 e 42.

Os perfis de dissolução para as Formulações 1 e 3 não foram realizados em LSS 1,5% (p/V), uma vez que esta quantidade de tensoativo é superior a quantidade necessária para diferenciar os perfis de dissolução das três formulações. Recomendações do FDA são feitas para utilizar a menor quantidade possível de tensoativo como meio de dissolução, pois quanto maior a concentração de tensoativo maior é o distanciamento da possível correlação *in vitro* - *in vivo* (CIVIV) para formas farmacêuticas contendo fármacos pouco solúveis (U.S. FOOD, 1997).

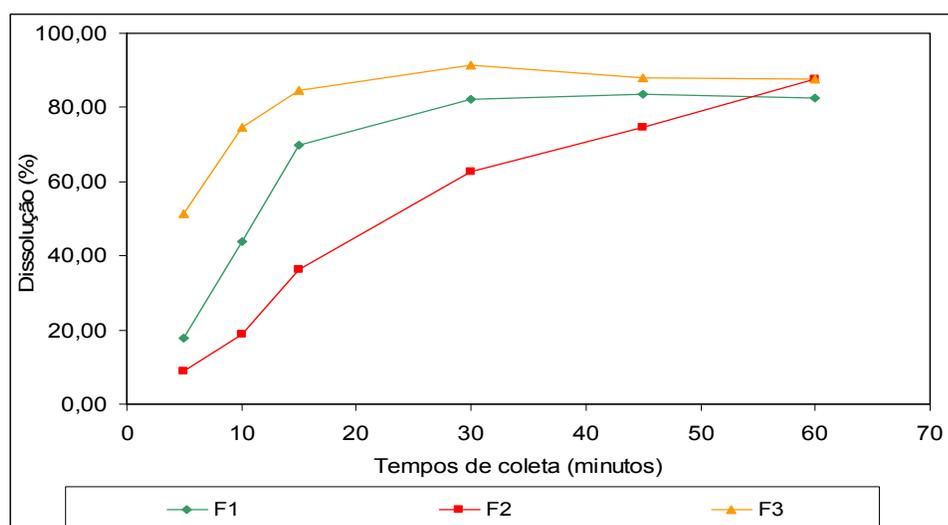
Utilizando-se água como meio de dissolução percebe-se que em trinta minutos nenhuma formulação liberou quantidade de OXC acima de 85%, sendo a quantidade liberada para as Formulações 1, 2 e 3 iguais a 60,21%, 32,20% e 63,22%, respectivamente. Assim, comprova-se que a água não constitui um meio de dissolução adequado para desenvolver o teste de dissolução de OXC.

Observa-se (**Tabela 48**) que para a Formulação 2 no tempo 30 minutos com os meios de dissolução LSS 0,5% (100 rpm) , LSS 1,0% (75 e 100 rpm) e LSS 1,5% (75 e 100 rpm) a liberação do fármaco é maior que 85% e a quantidade liberada aumenta se a agitação das cestas passa de 75 rpm para 100 rpm. Observa-se, também, que as quantidades do fármaco dissolvido nos meios LSS 1,0% e LSS 1,5%, nas mesmas velocidades de agitação das cestas, estão próximas. Desse modo, a utilização de LSS 1,5% como meio de dissolução não é justificada. Para as Formulações 1 e 3 a quantidade de fármaco liberada no tempo de 30 minutos também aumenta quando a velocidade de agitação das cestas passa de 75 rpm para 100 rpm, comparando-se os mesmos meios de dissolução (tabelas 47 e 49).

Ao compararmos a quantidade de OXC dissolvida em LSS 0,5% (75 rpm) com a quantidade dissolvida em LSS 1,0% (75 rpm) e LSS 1,5% (75 rpm), para a Formulação 2 no tempo de 60 minutos, percebe-se que a extensão de liberação de OXC aumenta quando a concentração de tensoativo no meio de dissolução aumenta (tabelas 47, 48 e 49). Para as Formulações 1 e 3, considerando-se a mesma velocidade de agitação das cestas a quantidade de fármaco liberada aumenta se a

concentração de LSS no meio de dissolução testada passa de 0,5% para 1,0% (p/V) (tabelas 47 e 49).

Conforme os resultados obtidos, o meio de dissolução e a velocidade de agitação capazes de revelar diferenças existentes entre as Formulações 1, 2 e 3 foi LSS 0,5% com velocidade de agitação das cestas de 75 rpm. Nessas condições, em 30 minutos, foram liberados 82,08% da quantidade de fármaco presente nas cápsulas da Formulação 1, 62,74% nas cápsulas da Formulação 2 e 89,28% nas cápsulas da Formulação 3 (tabelas 47, 48 e 49). Na **Figura 43** estão graficamente representados os perfis de dissolução de todas as formulações em LSS 0,5% e 75 rpm.



**Figura 43** – Perfis de dissolução de cápsulas manipuladas contendo 150 mg de OXC em LSS 0,5% com velocidade de agitação de 75 rpm para as Formulações 1, 2 e 3.

Conforme a **Figura 43** existe diferenças entre as formulações testadas sendo que a Formulação 2 é a que apresenta um perfil de dissolução do fármaco mais lento. Em contraposição, a Formulação 3 apresenta o perfil de liberação do fármaco mais rápido, atingido mais de 70% de liberação de OXC em 10 minutos de dissolução tanto para o meio de dissolução LSS 0,5% (75 e 100 rpm) quanto para o meio LSS 1,0% (75 e 100 rpm) em comparação com as Formulações 1 e 2.

Os diferentes perfis de dissolução das três formulações corroboram o importante papel dos excipientes na dissolução de um fármaco em fórmulas farmacêuticas sólidas. A Formulação 3 apresenta em sua composição excipientes solúveis em

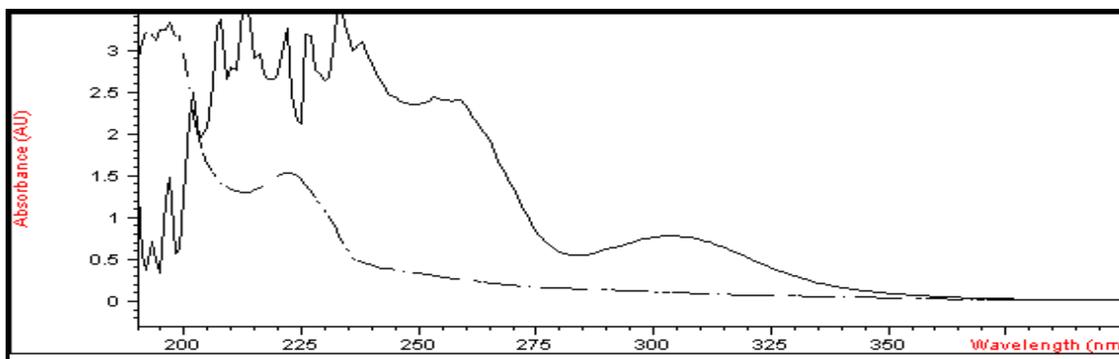
água e LSS (1,1%), o que aumenta a velocidade de dissolução de OXC. A Formulação 1 possui excipientes tais como celulose microcristalina e amido de milho, que além de serem utilizados como diluentes, para o preenchimento do volume interno das cápsulas, agem como desintegrantes o que otimiza a liberação do fármaco da forma farmacêutica. Também, a Formulação 1 possui LSS (1%) como excipiente o que acelera a solubilização do fármaco. A Formulação 2 possui como excipiente somente Starcap 1500<sup>®</sup> (mistura de amido de milho e amido pré-gelatinizado desenvolvido especialmente para cápsulas) que apesar do apelo comercial de melhorar as propriedades de desintegração da forma farmacêutica, usado isoladamente, não melhorou as propriedades de solubilização de OXC comparado com as misturas de excipientes das Formulações 1 e 3.

O método para dissolução utilizando-se 900 mL de LSS 0,5% (p/V) e cestas a 75 rpm para cápsulas manipuladas de OXC pode ser utilizado para fins de controle de qualidade e desenvolvimento farmacotécnico, ou seja, para a comparação do desempenho de diferentes formulações de OXC. Com o intuito de sua execução como teste de controle de qualidade é desejável que em cerca de 30 minutos 80% (Q + 5%) do fármaco seja dissolvido (U.S. FOOD, 1997).

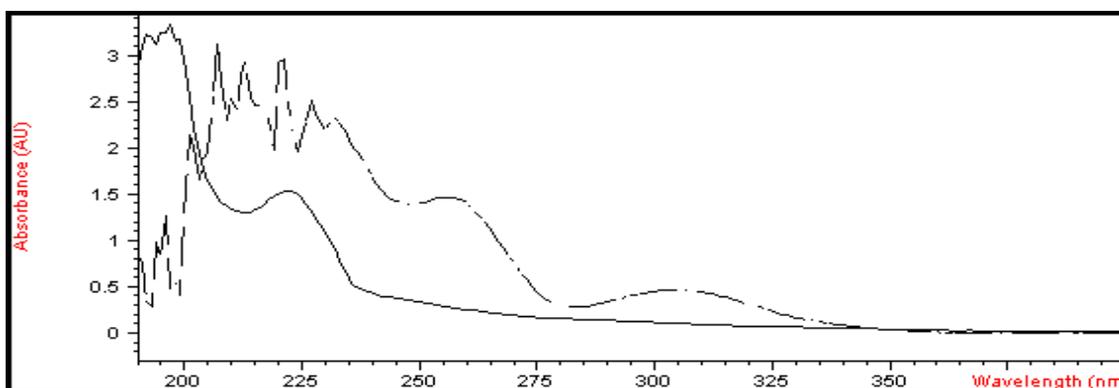
### **6.5.3 Validação do método de dissolução**

#### **6.5.3.1 Seletividade**

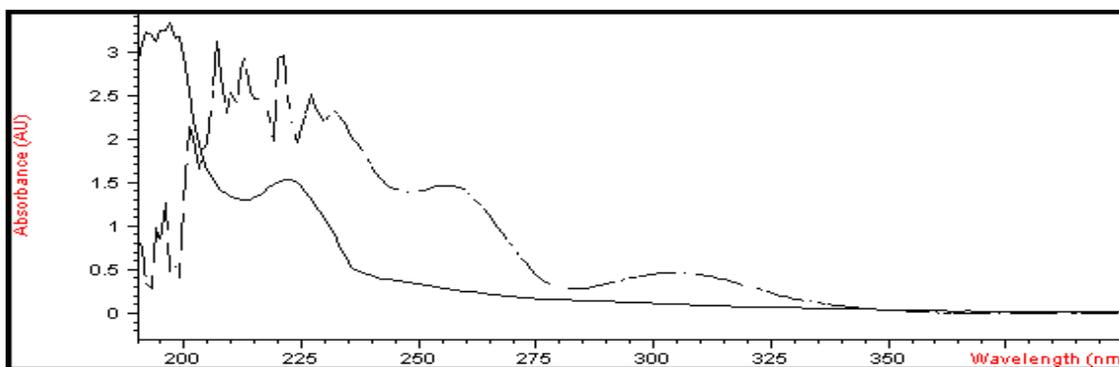
Os espectros das *soluções padrão de trabalho de OXC* (branco LSS 0,5%, 1,0% e 1,5% (p/V)) foram sobrepostos às soluções de LSS (branco água) (figuras 44, 45 e 46). Na **Tabela 50** estão descritos os valores de absorvância das soluções de OXC e de LSS em 305 nm e as porcentagens de interferência das soluções de LSS na resposta de OXC.



**Figura 44** – Sobreposição dos espectros de absorção na região UV, da *solução padrão de trabalho de OXC* (—) na concentração 50,0 µg/mL em LSS 0,5% (p/V) (branco LSS 0,5%) e da solução de LSS 0,5% (p/V) (----) na faixa 200 nm a 400 nm.



**Figura 45** – Sobreposição dos espectros de absorção na região UV, da *solução padrão de trabalho de OXC* (—) na concentração 50,0 µg/mL em LSS 1,0% (p/V) (branco LSS 1,0%) e da solução de LSS 1,0% (p/V) (----) na faixa 200 nm a 400 nm.



**Figura 46** – Sobreposição dos espectros de absorção na região UV, da *solução padrão de trabalho de OXC* (—) na concentração 50,0 µg/mL em LSS 1,5% (p/V) (branco LSS 1,5%) e da solução de LSS 1,5% (p/V) (----) na faixa 200 nm a 400 nm.

**Tabela 50** - Valores de absorvância das soluções de OXC e de LSS em 305 nm, e as porcentagens de interferência das soluções de LSS na resposta de OXC.

Soluções	Absorvância em 305 nm	% de absorção em relação a absorção de OXC em 305 nm
OXC (49,98 µg/mL)	0,49129	100
LSS 0,5% (p/V)	0,06967	14
LSS 1,0% (p/V)	0,10293	21
LSS 1,5% (p/V)	0,17804	36

A solução de LSS nas três concentrações absorve no  $\lambda$  305 nm, sendo que a solução LSS 0,5% (p/V) absorve em menor intensidade. Assim, as medidas de absorvância de OXC devem ser precedidas da realização do ajuste do zero do equipamento com a solução de LSS que será utilizada na análise.

### **6.5.3.2 Linearidade**

Foi construída curva analítica para OXC a partir de nove concentrações diferentes, para os meios de dissolução LSS 0,5% e LSS 1,0%. A curva obtida em LSS 0,5% demonstrou relação linear entre as concentrações das soluções (µg/mL) e as medidas de absorvância, na faixa concentração 10,0 a 90,0 µg/mL, que correspondem à faixa de 20 a 180% da concentração de trabalho. A curva obtida em LSS 1,0% demonstrou relação linear entre as concentrações das soluções e as medidas de absorvância, na faixa concentração 30,0 a 90,0 µg/mL, que correspondem à faixa de 60 a 180% da concentração de trabalho. Nas tabelas 51 e 52, estão apresentados os valores de concentração, suas respectivas medidas de absorvância e os FR para a avaliação da linearidade nos dois meios de dissolução.

**Tabela 51** - Concentrações das soluções, medidas de absorvância e FR para a construção da curva analítica de OXC em LSS 0,5%.

Nível	Concentração (µg/mL)	Absorvância	FR
20%	10,0	0,09206	0,0092
	10,0	0,09030	0,0090
	10,0	0,08843	0,0088
40%	20,0	0,17786	0,0089
	20,0	0,17771	0,0089
	20,0	0,17759	0,0089
60%	30,0	0,27009	0,0090
	30,0	0,26995	0,0090
	30,0	0,26961	0,0090
80%	40,0	0,36582	0,0091
	40,0	0,36500	0,0091
	40,0	0,36527	0,0091
100%	50,0	0,45851	0,0092
	50,0	0,45791	0,0092
	50,0	0,45802	0,0092
120%	60,0	0,55249	0,0092
	60,0	0,55175	0,0092
	60,0	0,55152	0,0092
140%	70,0	0,64782	0,0093
	70,0	0,64787	0,0093
	70,0	0,64757	0,0093
160%	80,0	0,73991	0,0092
	80,0	0,73900	0,0092
	80,0	0,73893	0,0092
180%	90,0	0,83574	0,0093
	90,0	0,83625	0,0093
	90,0	0,83587	0,0093
		<b>Média</b>	0,0091
		<b>DPR</b>	1,53

**Tabela 52** - Concentrações das soluções, medidas de absorvância e FR para a construção da curva analítica de OXC em LSS 1,0%.

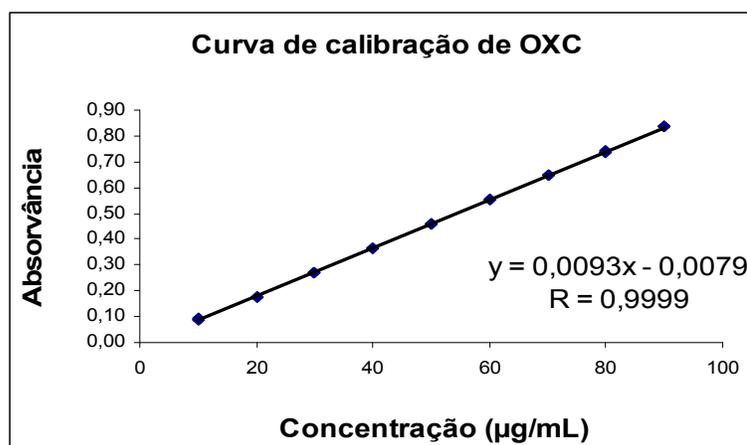
Nível	Concentração (µg/mL)	Absorvância	FR
20%	10,0	0,10540	0,0105
	10,0	0,10556	0,0106
	10,0	0,10540	0,0105
40%	20,0	0,19828	0,0099
	20,0	0,19705	0,0099
	20,0	0,19697	0,0098
60%	30,0	0,28498	0,0095
	30,0	0,28428	0,0095
	30,0	0,28431	0,0095
80%	40,0	0,36791	0,0092
	40,0	0,36601	0,0092
	40,0	0,36578	0,0091
100%	50,0	0,45875	0,0092
	50,0	0,45873	0,0092
	50,0	0,45871	0,0092
120%	60,0	0,55207	0,0092
	60,0	0,55043	0,0092
	60,0	0,54990	0,0092
140%	70,0	0,64347	0,0092
	70,0	0,64281	0,0092
	70,0	0,64316	0,0092
160%	80,0	0,73541	0,0092
	80,0	0,73480	0,0092
	80,0	0,73456	0,0092
180%	90,0	0,83048	0,0092
	90,0	0,82956	0,0092
	90,0	0,83027	0,0092
		<b>Média</b>	0,0094
		<b>DPR</b>	4,82

Os valores de DPR dos fatores de resposta para as duas curvas analíticas foram inferiores a 5%, indicando que existe uma possível linearidade.

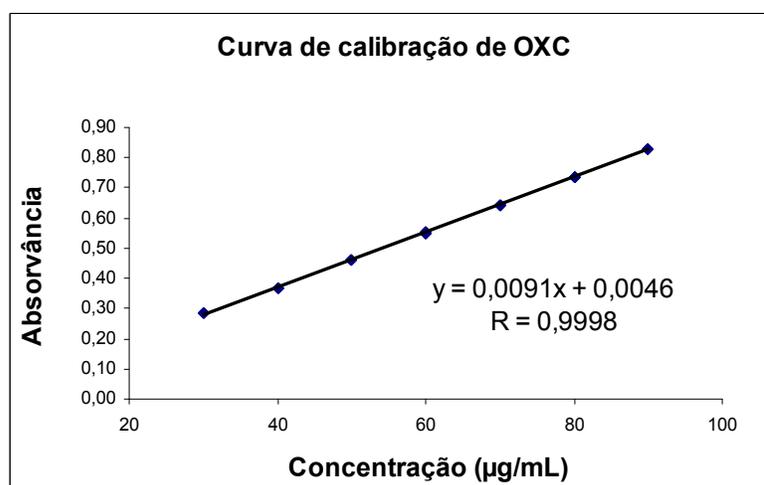
O FR expressa a relação existente entre a resposta (absorvância) e a concentração, pela razão entre as mesmas. Em uma curva analítica, os FR devem ser semelhantes

entre si e próximos do valor da inclinação da reta. Calcularam-se os FR e o DPR entre eles. Recomenda-se que o DPR seja inferior a 5% (ASOCIACIÓN..., 2001).

Nas figuras 47 e 48 estão representadas as curvas de calibração de OXC em LSS 0,5% e LSS 1,0% por espectrofotometria de absorção no UV e a equação da reta, calculados por regressão linear pelo método dos mínimos quadrados.



**Figura 47** – Curva analítica de OXC e a equação da reta obtida para avaliação da linearidade do teste de dissolução de OXC em LSS 0,5% por espectrofotometria de absorção na região UV.



**Figura 48** – Curva analítica de OXC e a equação da reta obtida para avaliação da linearidade do teste de dissolução de OXC em LSS 1,0% por espectrofotometria de absorção na região UV.

O coeficiente de correlação foi superior a 0,999 para os dois meios de dissolução, indicando correlação linear entre as concentrações de OXC e a absorvância na faixa 20 a 180% da concentração de trabalho para o meio LSS 0,5% e de 60 a 180% da concentração de trabalho em LSS 1,0%. Para o meio de dissolução LSS 0,5% o intercepto foi diferente de zero ao nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ), entretanto, não foi superior a 2% da resposta obtida a 100% da concentração de trabalho, conforme recomendado por GREEN (1996). Para o meio de dissolução LSS 1,0% o intercepto não foi diferente de zero ao nível de significância de 5% ( $p > 0,05$ ).

Os resultados da análise estatística indicam ajuste adequado dos dados aos modelos de regressão linear para os dois meios de dissolução.

## 7 CONCLUSÃO

Nas farmácias magistrais é possível manipular-se cápsulas contendo fármaco de Baixo Índice Terapêutico (BIT) com garantia de eficácia, segurança e qualidade desde que protocolos sejam estabelecidos e cumpridos na escolha e aquisição dos insumos e que sejam utilizados procedimentos de manipulação validados para obtenção do produto final. É indispensável o acompanhamento do farmacêutico responsável em todas as suas etapas.

O processo magistral proposto para a manipulação de cápsulas de Oxcarbazepina foi adequado. Os resultados dos ensaios de peso médio, teor e uniformidade de conteúdo foram satisfatórios mesmo quando empregado especificações descritas em Métodos Gerais da Farmacopéia Brasileira que são, primordialmente, para produtos industrializados.

O método analítico adaptado e validado para o doseamento da matéria-prima por cromatografia líquida de alta eficiência foi adequado ao seu propósito e cumpriu com os parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limites de detecção e de quantificação.

O método desenvolvido e validado para o doseamento de OXC em cápsulas manipuladas de 150 mg, para as três formulações, por espectrofotometria de absorção na região UV foi, também, adequado ao seu propósito e apresentou parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão e robustez. Esse procedimento é viável em uma farmácia magistral.

O método espectrofotométrico de absorção na região UV, apesar de não ser seletivo para matéria-prima, pode ser usado para doseamento como alternativa ao método por cromatografia líquida de alta eficiência.

O perfil de dissolução comparativo contribuiu para avaliar a influência da mistura de excipientes na solubilização de OXC. A Formulação 3 apresentou propriedades de densidade e fluidez adequadas, bem como liberação imediata do fármaco ( $Q > 85\%$ ) na concentração de LSS 0,5% (p/V), ou seja, menor concentração de LSS testada

para o meio de dissolução. Faz-se necessário estudo de estabilidade das formulações propostas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS, Rio de Janeiro. **NBR 14724**: informação e documentação – trabalhos acadêmicos – apresentação. Rio de Janeiro, 2006.

AULTON, Michael E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677 p.

BELLE, K. V.; VERFAILLIE, I.; EBINGER, G.; MICHOTTE, Y. Liquid chromatographic assay using a microcolumn coupled to a U-shaped optical cell for high-sensitivity ultraviolet absorbance detection of oxcarbazepina and its major metabolite in microdialysate. **Journal of Chromatography B**, v. 612, p. 97-102, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**; Brasília, DF, Poder Executivo, de 9 de outubro de 2007. Disponível em: <<http://elegis.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 5 nov. 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 214, de 12 de dezembro de 2006. Dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em farmácias. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**; Brasília, DF, Poder Executivo, de 18 de dezembro de 2006. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 16 maio 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa autua farmácias de manipulação em São Paulo. **Notícias da ANVISA: Diário e Mensal**. Brasília, DF, 30 de agosto de 2005a. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 16 mar. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 232, de 17 de agosto de 2005. Fica estabelecida a inclusão da substância colchicina no Anexo I - Substâncias de Baixo Índice Terapêutico, da Resolução RDC nº. 354, de 18 de dezembro de 2003b. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**; Brasília, DF, Poder Executivo, de 18 de agosto de 2005. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 11 abr. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta pública: funcionamento de farmácias de manipulação. **Notícias da ANVISA: Diário e Mensal**. Brasília, DF, 29 de abril de 2005c. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 16 mar. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Consulta Pública nº 31 de 15 de abril de 2005. Proposta de Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em farmácias. **Diário Oficial [da]**

**República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Poder Executivo, de 18 de abril de 2005d. Disponível em: <<http://www4.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 12 abr. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 354, de 18 de dezembro de 2003. Permite a manipulação de produtos farmacêuticos, em todas as formas farmacêuticas de uso interno, que contenham substâncias de baixo índice terapêutico, aos estabelecimentos farmacêuticos que cumprirem as condições especificadas. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**; Brasília, DF, Poder Executivo, de 22 de dezembro de 2003a. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 11 abr. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Clonidina - medicamento manipulado. Farmacovigilância. **Alertas Federais de Farmacovigilância**. Alerta SNVS/Anvisa/Ufarm nº 9, de 03 de outubro de 2003. Brasília, DF, 3 de outubro de 2003b. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 17 mar. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 1621 de 03 de outubro de 2003. Suspende, como medida de interesse sanitário, a manipulação pelas farmácias dos produtos contendo substâncias de baixo índice terapêutico, relacionadas no Anexo. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**; Brasília, DF, Poder Executivo, 6 de outubro de 2003c. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 11 abr. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 1638, de 08 de outubro de 2003. Suspende, como medida de interesse sanitário, a manipulação de produtos contendo substâncias de baixo índice terapêutico, relacionadas no Anexo e seus sais ou derivados. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**; Brasília, DF, Poder Executivo, 9 de outubro de 2003d. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 11 abr. 2006.

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] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, Poder Executivo, de 2 junho de 2003e.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa investiga pacientes que usaram medicamento manipulado. **Notícias da ANVISA: Diário e Mensal**. Brasília, 19 de setembro de 2002a. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 17 mar. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Anvisa investiga morte suspeita por uso de medicamento manipulado. **Notícias da ANVISA: Diário e Mensal**. Brasília, DF, 17 de setembro de 2002b. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 16 mar. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 33, de 19 de abril de 2000. Aprova o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**; Poder Executivo, Brasília, 24 de abril de 2000. Disponível em: <<http://e-legis.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 4 abr. 2006.

BRASIL. Decreto nº 85.878, de 7 de abril de 1981. Estabelece normas para execução da Lei nº 3.820, de 11 de novembro de 1960, sobre o exercício da profissão de farmacêutico, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, 9 de abril de 1981. Disponível em: <<http://e-legis.bvs.br>>. Acesso em: 24 abr. 2006.

BRITISH Pharmacopoeia 2007. London: The Stationary Office, 2006. v. 4, General notices, Supplementary Chapter IA, A. Control of Impurities p. A490-A493; A. XVIIID Apparent Volume.

CAMACHOS-SANCHES, M.A.; TORRES SUAREZ, A.I.; GIL ALEGRE, M.E.; OBREGON SANCHEZ M.M.; RUZ PALOMAR V.S.T.P. *Pharma Pratiques*, v. 3 (3), p. 197-202, 1993.

CARRIL, Mónica; SANMARTIN, Raul; CHURRUCA, Fátima; TELLITU, Imanol; DOMÍNGUEZ, Esther. An advantageous route to oxcarbazepine (Trileptal) based on palladium-catalysed arylations free of transmetallating agents. **Organic Letters**, v. 7, nº 22, p. 4787–4789, 2005.

CECIL, Russell L.; PLUM, Fred; BENETT, J. Claude. **Tratado de medicina interna**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997. 2 v.

COLLINS, Carol H., BRAGA, Gilberto L., BONATO, Pierina S. **Introdução a Métodos Cromatográficos**. 7 ed. São Paulo: Editora da Unicamp, 1997.

COLORCON excipients. **STARCAP 1500® co-processed starch excipient**, 2006. Disponível em: <<http://www.colorcon.com/literature/marketing>>. Acesso em: abr. 2007.

FARMACOPÉIA brasileira. 4. ed. São Paulo: Atheneu, 1988.

FERREIRA, Anderson de Oliveira. **Guia prático da farmácia magistral**. 2. ed. Juiz de Fora: 2002. 844 p.

FLESCHE, G. Overview of the Clinical Pharmacokinetics of Oxcarbazepine. **Clin. Drug Invest**, v. 24(4), p. 185-203, 2004.

FORSTER, A.; HEMPENSTALL, J.; TUCKER, I.; RADES, T. Selection of excipients for melt extrusion with two poorly water-soluble drugs solubility parameter calculation

and thermal analysis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 226, p. 147-161, 2001.

FRANCESCHI, L.; FURLANUT, M. A simple method to monitor plasma concentration of oxcarbazepine, carbamazepine, their main metabolites and lamotrigine in epileptic patients. **Pharmacological Research**, v. 51, p. 297-302, 2005.

GANDER, B.; VENTOURAS, K.; GURNY, R.; DOELKER, E. In vitro dissolution medium with supramicellar surfactant concentration and its relevance for in vivo absorption. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 27, n. 1, p. 117-124, 1985.

GENNARO, A. R. **A ciência e a prática da farmácia**. 20. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. 2208 p.

GIRON D., Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry, **J. Therm. Anal. Cal.**, 68, p. 335-357, 2002.

GOODMAN, Louis Sanford; GILMAN, Alfred. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 10.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2003. 1647 p.

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

GUERREIRO, Carlos Alberto Mantovani; GUERREIRO, Marilisa Mantovani. **Epilepsia**. 2. ed. rev. e ampl. São Paulo: Lemos, 1996. 477p.

INTERNATIONAL Conference on Harmonization – ICH. **Validation of analytical procedures: text and methodology (Q2 R1)**. London, 1995. p. 1-15.

KIBBE, Arthur H. (Ed) **Handbook of pharmaceutical excipients**. 3th. ed. London: Pharmaceutical Press, 2000.

KIMISKIDIS, V.; SPANAKIS, M.; NIOPAS, I.; KAZIS, D.; GABRIELI, C.; KANAZE, F. I.; DIVANOGLU, D. Development and validation of a high performance liquid chromatographic method for the determination of oxcarbazepina and its main metabolites in human plasma and cerebrospinal fluid and its application to pharmacokinetic study. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, p. 763-768, 2007.

KLYS, M.; ROJEK, S.; BOLECHALA, F. Determination of oxcarbazepine and its metabolites in postmortem blood and hair by means of liquid chromatography with mass detection (HPLC/APCI/MS). **Journal of Chromatography B**, v. 825, p. 38-46, 2005.

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F. F. A. C. **Dicionário terapêutico Guanabara**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

LANCKMANS, K.; EECKHAUT, A.V.; SARRE, S.; SMOLDERS, I.; MICHOTTE, Y. Capillary and nano-liquid chromatography-tandem mass spectrometry for the quantification of small molecules in microdialysis: comparison with microbore dimensions. **Journal of Chromatography A**, v. 1131, p. 166-175, 2006.

LACHMAN, Leon; LIEBERMAN, Herbert A.; KANIG, Joseph L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. 1. ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. v. 1. 499 p.

LEVERT, H.; ODOU, P.; ROBERT, H. L. C. determination of oxcarbazepine and its active metabolite in human serum. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, p. 517-525, 2002.

MANDRIOLI, R.; GHENDINI, N.; ALBANI, F.; KENNDLER, E.; RAGGI, M. A. Liquid chromatographic determination of oxcarbazepine and its metabolites in plasma of epileptic patients after solid-phase extraction. **Journal of Chromatography B**, v. 783, p. 253-263, 2002.

MANUILA, L.; MANUILA, A.; LEWALLE, P.; NICOULIN, M. **Dicionário Médico**. Rio de Janeiro: Medsi, 2003. 374 p.

MAY, T. W.; KORN-MERKER, E.; RAMBECK, B. **Clinical Pharmacokinetics of Oxcarbazepine**. **Clin. Pharmacokinet**, v. 42 (12), p. 1023-1042, 2003.

MOFFAT, A. C.; OSSELTON, M. D.; WIDDAP, B. **Clarke's analysis of drugs and poisons**: in pharmaceuticals, body fluids and postmortem material. 3th. ed. London: Pharmaceutical Press (PhP), 2004. v. 2, 1935 p.

NETO, J. G.; MARCHETTI, R. L. Aspectos epidemiológicos e relevância dos transtornos mentais associados à epilepsia. **Revista Brasileira de Psiquiatria**, 27 (4), p. 323-328, 2005.

NOORY, C.; TRAN, N.; OUDERKIRK, L.; SHAH, V. Steps for development of a dissolution test for sparingly water-soluble drug products. **Dissolution Technologies**, Hockessin, v. 7, n. 1, p. 16-18, 2000.

O'NEIL, Maryadele J. **The Merck Index**: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 14. ed. Whitehouse Station, NJ: Merck, 2006. 1756 p.

PATHARE, D. B.; JADHAV, A. S.; SHINGARE, M. S. A. A validated stability indicating LC method for oxcarbazepine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, p. 1825-1830, 2007.

PIENIMÄKI, P.; FUCHS, S.; ISOJÄRVI, VÄJÄKANGAS, J. K. Improved detection and determination of carbamazepine and oxcarbazepina and their metabolites by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v. 673, p. 97-105, 1995.

PYRAMIDES, G.; ORBINSON, J. W.; ZITO, S. W. The combined use of DSC and TGA for the thermal analysis of atenolol tablets. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, v. 13, n. 2, p.103-110, 1995.

Qi, M. L.; WANG, P.; WANG, L. J.; FU, R. N. LC method for the determination of oxcarbazepine in pharmaceutical preparations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 31, p. 57-62, 2003.

ROCHA, M. O. C. *et al.* **Terapêutica Clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 1309 p.

SHAH, V. P.; KONECNY, J. J.; EVERETT, R. L.; MCCULLOUGH, B.; NOORIZADEH, A. C.; SKELLY, J. P. In vitro dissolution profile of water-insoluble drug dosage forms in the presence of surfactants. **Pharmaceutical Research**, New York, v. 6, n. 7, p. 612-618, 1989.

SHRINER, R. L.; FUSON, R. C.; CURTIN, D. Y. **The Systematic Identification of Organic Compounds**. A Laboratory Manual. 50th. New York: John Wiley & Sons, Inc., 1964. p. 126–127.

SCHIMDT, D *et al.* Recommendations on the clinical use of oxcarbazepina in the treatment of epilepsy: a consensus view. **Acta Neurol. Scand.**, v. 104, p. 167-170, 2001.

SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J.; GLAJCH, J. L. **Practical HPLC Method Development**. 2. ed. New York: John Wiley & Sons, 1997.

TEVA PHARMACEUTICAL Industries Ltd. ARONHIME, J.; DOLITZKY, B.; BERKOVICH, Y.; GARTH, N. **New crystal forms of oxcarbazepine and processes for their preparation**. PCT/US02/04065; WO 02/064557 A3, 12 de fevereiro de 2001, 12 de fevereiro de 2002. International Application Published under Patent Cooperation Treaty (PCT), 22 de agosto de 2002

THE UNITED states pharmacopeia: USP31-NF26. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2008. General notices; chap. <231>; chap. <699>; chap. <1092>; chap. <1174>.

THOMPSON, Judith E. **A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos**. 1. ed. Porto Alegre: Artmed, 2006. 576 p.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). **Guidance for industry, analytical procedures and methods validation**. Rockville, 2000.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. Center for Drug Evaluation and Research (CDER). **Guidance for industry, dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms**. Rockville, 1997.

VADJA, F. J. E. New antiepileptic drugs. **Journal of Clinical Neuroscience**, v. 7(2), p. 88-101, 2000.

ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE FARMACÉUTICOS DE LA INDUSTRIA (AEFI). Validación de métodos analíticos. Barcelona, 2001.

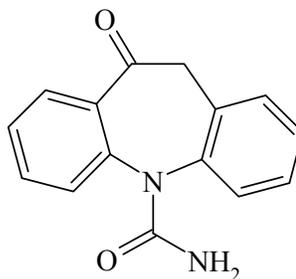
VOLOSOV, A.; BIALER, M.; XIAODONG, S.; PERUCCA, E.; SINTOV, A.; YAGEN, B. Simultaneous stereoselective high-performance liquid chromatographic determination of 10-hydroxycarbamazepine and its metabolite carbamazepine-10,11-*trans*-dihydrodiol in human urine. **Journal of Chromatography B**, v. 738, p. 419-425, 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. Media Centre. **Epilepsy: historical overview**. Fact sheet N°168. Revised February 2001a. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs168/en/>>. Acesso em: 13 abr. 2006.

WORLD HEALTH ORGANIZATION – WHO. **Epilepsy: aetiology, epidemiology and prognosis**. Fact sheet N° 165. Revised February 2001b. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs165/en/>>. Acesso em: 13 abr. 2006.

**APÊNDICE A - Proposta de monografia de oxcarbazepina matéria-prima para a Farmacopéia Brasileira.**

**OXCARBAZEPINA**  
*Oxcarbazepinum*



$C_{15}H_{12}N_2O_2$

252,27

06691

10,11-Diidro-10-oxo-5H-dibenzo[*b,f*]azepina-5-carboxamida

Contém, no mínimo, 98,0% e, no máximo, 102,0% de  $C_{15}H_{12}N_2O_2$ , em relação à substância dessecada.

#### DESCRIÇÃO

**Características físicas.** Pó cristalino branco a levemente alaranjado, inodoro.

**Solubilidade.** Praticamente insolúvel em água e hexano, pouco solúvel em acetona, acetonitrila, clorofórmio, diclorometano, etanol e metanol. Praticamente insolúvel em ácido clorídrico 0,1 mol/l e pouco solúvel em hidróxido de sódio 0,1 mol/l.

#### IDENTIFICAÇÃO

**A.** O espectro de absorção no infravermelho (V.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 oxcarbazepina SQR, preparado de maneira idêntica.

**B.** O espectro de absorção no ultravioleta (V.2.14), na faixa 200 nm a 400 nm, de solução a 0,005% (p/V) em metanol, exibe máximos em 253 nm e 305 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de oxcarbazepina SQR.

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

**D.** Agitar 0,01 g da amostra com 6 ml de etanol e 6 ml de 2,4-dinitrofenilhidrazina. Produz-se precipitado alaranjado.

## ENSAIOS DE PUREZA

**Metais pesados** (V.3.2.3). Proceder conforme descrito em *Método II*. No máximo 0,002% (20 ppm).

**Perda por dessecação** (V.2.9). Determinar em 1 g da amostra, em estufa a 105 °C, por duas horas. No máximo 0,5%.

**Cinzas sulfatadas** (V.2.10). Determinar em 1 g da amostra. No máximo 0,1%.

## DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia líquida de alta eficiência* (V.2.17.4). Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 253 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 à 30 °C; fluxo da fase móvel de 1 ml/minuto.

*Tampão pH 6,8*: dissolver 2,72 g de fosfato de potássio monobásico em 900 ml de água. Ajustar o pH para 6,8 com hidróxido de potássio, completar o volume para 1000 ml com água e homogeneizar.

*Fase móvel*: mistura de *Tampão pH 6,8*, acetonitrila e água (12:32:56).

*Solução amostra:* transferir 25 mg da amostra, exatamente pesada, para balão volumétrico de 25 ml, adicionar 15 ml de acetonitrila e agitar em ultra-som por 5 minutos. Transferir 5,0 ml para balão volumétrico de 100 ml, completar o volume com *fase móvel* e homogeneizar.

*Solução padrão:* transferir 25 mg de oxcarbazepina SQR, exatamente pesada, para balão volumétrico de 25 ml, adicionar 15 ml de acetonitrila e agitar em ultra-som por 5 minutos. Transferir 5,0 ml para balão volumétrico de 100 ml, completar o volume com *fase móvel* e homogeneizar.

*Procedimento:* injetar, separadamente, 20 µl das *soluções padrão e amostra*, registrar os cromatogramas e medir a área dos picos. Calcular o teor de  $C_{15}H_{12}N_2O_2$  na amostra, a partir das respostas obtidas com as *soluções padrão e amostra*.

## EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipientes bem fechados.

## ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

## CLASSE TERAPÊUTICA

Anticonvulsivante.

---

## XII.2 REAGENTES E SOLUÇÕES REAGENTES

### **2,4-dinitrofenilhidrazina SR**

*Preparação* - Dissolver 3 g de 2,4–dinitrofenilhidrazina em 15 ml de ácido sulfúrico concentrado. Adicionar, cuidadosamente e sob agitação, 20 ml de água e 70 ml de etanol. Homogeneizar e filtrar.

**APÊNDICE B - Proposta de monografia de cápsulas de oxcarbazepina 150 mg para o Formulário Nacional\*.**

## **OXCARBAZEPINA CÁPSULAS DE 150 MG**

### **1 CLASSE TERAPÊUTICA**

Anticonvulsivante.

**2 FORMA FARMACÊUTICA:** cápsulas.

### **3 FÓRMULA**

<b>Componentes</b>	<b>Quantidade</b>
Oxcarbazepina	150,0 mg
Lactose	208,0 mg
Manitol	65,0 mg
Dióxido de silício coloidal	2,0 mg
Laurilsulfato de sódio	5,0 mg

### **4 ORIENTAÇÕES PARA O PREPARO**

Fazer a assepsia da área e do material que será utilizado para o preparo da formulação. Pesar, separadamente, os excipientes e o fármaco, utilizando papel manteiga, em balança analítica. Tamisar os pós e transferi-los para um gral de porcelana acrescentando quantidade igual à quantidade de pó anterior e iniciar pelo insumo que estiver presente em menor quantidade. Realizar a mistura no gral com auxílio do pistilo, fazendo 10 movimentos no sentido horário e 10 no sentido anti-horário, repetindo esse procedimento a cada incremento de fármaco ou excipiente. Após ter acrescentado todo o pó no gral de porcelana realizar a homogeneização do pó por 2 minutos alternando o sentido do movimento. Distribuir em fileiras o pó na encapsuladeira de cima para baixo, em movimentos repetitivos, até esgotá-lo. Acomodar o pó nas cápsulas com leves batidas na encapsuladeira. Inverter o sentido da distribuição do pó e esgotá-lo em movimentos repetitivos da direita para esquerda. Acomodar o pó nas cápsulas com leves batidas na encapsuladeira. Alternar o sentido da distribuição até encapsular todo o pó.

### **5 CONTROLE DE QUALIDADE**

## 5.1 IDENTIFICAÇÃO

**A.** Pesar do pó das cápsulas o equivalente a 0,01 g de oxcarbazepina e adicionar 6 ml de etanol. Filtrar e agitar vigorosamente com 6 ml de 2,4-dinitrofenilhidrazina. Produz-se precipitado alaranjado.

**B.** O espectro de absorção no ultravioleta (V.2.14), na faixa 200 nm a 400 nm, de solução a 0,005% (p/V) em metanol, exibe máximos em 253 nm e 305 nm, idênticos aos observados no espectro de solução similar de oxcarbazepina SQR.

## 5.2 CARACTERÍSTICAS

**Determinação de peso** (V.1.1). Cumpre o teste.

**Teste de desintegração** (V.1.4.1). Cumpre o teste.

**Uniformidade de doses unitárias** (V.1.6). Cumpre o teste.

## 5.3 TESTE DE DISSOLUÇÃO (V.1.5)

*Meio de dissolução:* lauril sulfato de sódio 0,5% (p/V), 900 ml

*Aparelhagem:* cestas, 75 rpm

*Tempo:* 30 minutos

*Procedimento:* após o teste, retirar alíquota do meio de dissolução, filtrar e diluir em lauril sulfato de sódio 0,5% (p/V) até concentração adequada. Medir as absorvâncias das soluções em 305 nm (V.2.14), utilizando o mesmo solvente para ajuste do zero. Calcular a quantidade de  $C_{15}H_{12}N_2O_2$  dissolvida no meio, comparando as medidas obtidas com a da solução padrão de oxcarbazepina em lauril sulfato de sódio 0,05% (p/V), preparada com diluição prévia em metanol para garantir a solubilização.

*Tolerância:* não menos que 80% (T) da quantidade declarada de  $C_{15}H_{12}N_2O_2$  se dissolvem em 30 minutos.

## 5.4 DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Espectrofotometria de absorção no ultravioleta* (V.2.14). Pesar 20 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. Homogeneizar o conteúdo das cápsulas. Transferir quantidade do pó equivalente a 50 mg de oxcarbazepina para balão volumétrico de 50 ml. Adicionar 40 ml de metanol, deixar em ultra-som por 10 minutos e completar o volume com o mesmo solvente. Homogeneizar e filtrar, desprezando os primeiros mililitros do filtrado. Diluir, sucessivamente, em metanol, até concentração de 0,005% (p/V). Preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando o mesmo solvente. Medir as absorvâncias das soluções resultantes em 305 nm, utilizando metanol para ajuste do zero. Calcular o teor de  $C_{15}H_{12}N_2O_2$  na amostra a partir das medidas obtidas.

**6 CONSERVAÇÃO E ARMAZENAMENTO**

Recipientes adequados, de vidro âmbar ou plástico opaco, perfeitamente fechados, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente.

**7 ADVERTÊNCIAS**

Utilizar somente sob orientação médica.

Manter fora do alcance de crianças.

**8 INDICAÇÕES TERAPÊUTICAS E MODO DE USAR****8.1 Principais indicações terapêuticas**

Tratamento de crises epiléticas generalizadas tônico-clônicas e crises parciais com ou sem generalização secundária.

**8.2 Modo de usar**

Seguir as orientações médicas.

Uso interno

**9 ROTULAGEM**

Observar a legislação vigente.

\* A proposta carece de desenvolvimento de estudos do processo magistral para adequação à realidade.