



Validação de método analítico para avaliação da qualidade de cápsulas de cloridrato de metformina manipuladas

Luciane Varini Laporta^{1,*}; Thiele Faccim de Brum¹; Flávio da Rosa Pons Júnior¹; Marcos Roberto dos Santos¹; Camila Adolfo Gonçalves¹

¹ Curso de Farmácia do Centro Universitário Franciscano (UNIFRA), Santa Maria, RS, Brasil

RESUMO

As farmácias magistrais têm se mostrado uma alternativa quando o paciente procura medicamentos com doses personalizadas ou custos mais baixos, o que resultou em um crescente aumento pela procura de medicamentos manipulados. Porém, apesar das vantagens, estes medicamentos não passam por um rígido controle de qualidade, o que pode colocar o tratamento do paciente em risco. Este trabalho teve como objetivos validar metodologia analítica e avaliar a qualidade das cápsulas de cloridrato de metformina manipuladas por sete farmácias de Santa Maria – RS. O método validado mostrou-se seletivo, linear, preciso, exato e robusto, podendo ser utilizado para a determinação quantitativa de cloridrato de metformina em cápsulas. As cápsulas produzidas pelas farmácias A, B, D, F e G cumpriram com os requisitos mínimos de controle de qualidade e as cápsulas manipuladas pelas farmácias C e E foram reprovadas nos testes de doseamento e uniformidade de doses unitárias.

Palavras-chave: Controle da qualidade. Metformina. Manipulação. Validação.

INTRODUÇÃO

O número de pessoas portadoras de diabetes *mellitus* vem crescendo a cada ano e necessitam, na maioria das vezes, além de dieta e exercícios, da utilização de medicamentos que venham a controlar o nível da glicemia. O principal objetivo do tratamento é manter, o máximo possível, a concentração sérica de glicose dentro dos limites de normalidade.

O cloridrato de metformina (Figura 1) é um hipoglicemiante oral que atua primeiramente diminuindo a liberação hepática de glicose, principalmente pela inibição da gliconeogênese, aumenta a sensibilidade dos tecidos, a insulina e reduz a absorção de glicose pelo trato

gastrointestinal. Em doses de 1000 a 2500 mg ao dia, durante três meses, reduz de 9% a 30% a produção basal de glicose. Além de reduzir os níveis de glicemia, também reduz os níveis de colesterol e de triglicerídeos circulantes, associado ao declínio das lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e de baixa densidade (LDL) (Harvey & Champe, 2002; Larini, 2008). Suas doses podem variar de 500 mg até 3 g, diárias, divididas em duas ou três administrações. Sua meia-vida varia de 4 a 9 horas e atinge concentração plasmática máxima, geralmente, dentro de 2 a 3 horas após a administração. É excretada inalterada principalmente pela urina (Korolkovas & França, 2008; Larini, 2008). Está disponível no mercado brasileiro na forma farmacêutica de comprimidos, nas concentrações de 500 mg, 850 mg e 1g/comprimido, mas também pode ser encontrada na forma farmacêutica de cápsulas, produzidas por farmácias de manipulação (Korolkovas & França, 2008).

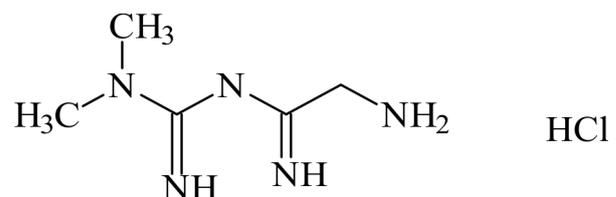


Figura 1. Estrutura química do cloridrato de metformina.

A possibilidade de adquirir medicamentos com menor custo, dosagens específicas e forma farmacêutica individualizada tem feito os consumidores procurarem as farmácias de manipulação. Apesar das vantagens dos medicamentos manipulados, ainda existem algumas limitações tecnológicas e de controle de qualidade inerentes ao processo de produção personalizada, quando comparados aos processos realizados pelas indústrias farmacêuticas (Külkamp, 2003; Silva, 2010; Storpirts & Consiglieri, 1995). O governo regulamentou as atividades deste setor através da RDC 33 revogada pela RDC 67, que trata das Boas Práticas de Manipulação (Brasil, 2007).

As cápsulas de gelatina dura estão entre os produtos manipulados mais solicitados pela população. Elas são preparadas, na maioria das vezes, pelo método de nivelamento de superfície, o que é mais acessível

financeiramente e de fácil execução, porém deve ser desenvolvida com muita cautela para obtenção de pesos homogêneos entre as cápsulas (Petry et al., 1998; Silva, 2007; Villanova et al., 1999).

Para assegurar a qualidade dos medicamentos produzidos e consumidos em nosso país, é de fundamental importância que os métodos analíticos utilizados sejam seguros, de modo que se possam obter resultados confiáveis para a sua avaliação, tanto de matérias-primas como de produtos acabados. Dados analíticos não confiáveis podem conduzir a erros irreparáveis. Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação (Ribani et al., 2004). A validação deve garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando confiabilidade aos resultados. Um método de quantificação ideal seria aquele que reunisse com perfeito equilíbrio critérios como seletividade, sensibilidade, reprodutibilidade e baixo custo operacional (Ermer, 2001; Metha, 1997).

As Farmacopeias são os códigos oficiais e as monografias descritas nesses compêndios são de uso obrigatório, tanto para os produtores como para os laboratórios de controle de qualidade. Sendo assim, tendo em vista o grande consumo de cápsulas de metformina manipuladas, a ausência de monografia oficial para a forma farmacêutica em cápsulas e a necessidade de assegurar a qualidade desse produto, foi avaliado nesse trabalho e teve como objetivo principal validar a metodologia analítica para o controle de qualidade desta forma farmacêutica, e avaliar a qualidade das cápsulas manipuladas por sete farmácias da cidade de Santa Maria – RS.

MATERIAIS E MÉTODOS

Substância Química de Referência

Cloridrato de metformina - The United States Pharmacopeia (Lote: H0E136).

Amostras

Cápsulas de cloridrato de metformina 500 mg, manipuladas por sete farmácias de Santa Maria – RS, identificadas nesse trabalho pelas letras: A, B, C, D, E, F e G.

Reagentes

Água Milli-Q; etanol (MERCK); brometo de potássio (MERCK); fosfato de potássio monobásico (MERCK) e hidróxido de sódio (CARLO ERBA).

Equipamentos e acessórios

Aparelho de desintegração, PHARMA TEST, modelo PTZ; Aparelho de dissolução, PHARMA TEST, modelo PTWS-3E; Espectrofotômetro, SHIMADZU – UV

1650 PC; - Espectrofotômetro infravermelho, PERKIN ELMER - Spectrum one; Membrana filtrante porosidade 0,45 μm , Millipore; Balança analítica, BOSCH, modelo SAE 200; Estufa a vácuo, modelo VACUCCELL 55; Estufa de secagem, BIOMATIC; Destilador, BIOMATIC; Banho-maria; Mesa agitadora, TECNAL, modelo TE 140; Kit de filtração, SARTORIUS; Vidraria calibrada.

Validação da metodologia analítica

O método proposto foi validado conforme Resolução RE 899, The United States Pharmacopeia e International Conference on Harmonization (ICH), sendo utilizadas para essa finalidade, as cápsulas de cloridrato de metformina 500 mg produzidas pela farmácia A, que forneceu o placebo (Brasil, 2003; ICH, 2005; The United States Pharmacopeia, 2011).

Seletividade

Preparou-se solução de SQR de cloridrato de metformina e placebo simulado, na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$, em água. Traçou-se o espectro de cada uma das soluções na faixa de 200 nm a 400 nm e observou-se a presença de sinais na faixa do analito.

Intervalo e linearidade

Para o estudo do intervalo foram preparadas soluções em triplicata nas concentrações de 4 a 16 $\mu\text{g/mL}$ de cloridrato de metformina SQR em água. Mediram-se as absorvâncias das soluções em 232 nm, utilizando-se água para ajuste do zero. Construiu-se a curva analítica nas concentrações de 6, 8, 10, 12 e 14 $\mu\text{g/mL}$. A equação da reta foi obtida pelo método dos mínimos quadrados e avaliada por Análise de Variância (ANOVA).

Precisão

A repetibilidade foi determinada partindo-se de três tomadas de ensaio de 100 mg de cloridrato de metformina, obtendo-se soluções nas concentrações de 6, 10 e 14 $\mu\text{g/mL}$, realizadas no mesmo dia e pelo mesmo analista. A precisão intermediária foi obtida pela análise da amostra em três dias diferentes, por dois analistas diferentes, sendo as mesmas realizadas em triplicata, na concentração de 10 $\mu\text{g/mL}$. As absorvâncias das soluções foram medidas em 232 nm, utilizando-se água para ajuste do zero. A partir dos resultados obtidos foram calculados o desvio padrão (DP) e o desvio padrão relativo (DPR) e, ainda, avaliaram-se os mesmos utilizando-se a Análise de Variância (ANOVA).

Exatidão

A exatidão expressa, em porcentagem, foi avaliada a partir da adição e recuperação de quantidades conhecidas de cloridrato de metformina SQR, na amostra. Foram preparadas soluções nas concentrações finais de 5, 7,5, 10 e 12,5 $\mu\text{g/mL}$, sendo a concentração da amostra constante de 5 $\mu\text{g/mL}$. As absorvâncias das soluções foram medidas em 232 nm, utilizando-se água para ajuste do zero. A recuperação de 98% a 102% é recomendada para a exatidão do método. O teste foi realizado em triplicata.

Robustez

O planejamento do teste de robustez foi realizado por combinação fatorial, que permite não só avaliar a robustez do método, como também ordenar a influência de cada uma das variações nos resultados finais (Figura 2) (INMETRO, 2003).

Valor do fator	Combinação ensaiada							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A ou a	A	A	A	A	a	a	a	a
B ou b	B	B	b	b	B	B	b	b
C ou c	C	c	C	c	C	c	C	c
D ou d	D	D	d	d	d	d	D	D
E ou e	E	e	E	e	e	E	e	E
F ou f	F	f	f	F	F	f	f	F
G ou g	G	g	g	G	g	G	G	g
Resultado	s	t	u	v	w	x	y	z

Figura 2. Matriz de fatores para a determinação da robustez do método (Inmetro, 2003).

Os parâmetros alterados para a avaliação da robustez foram: comprimento de onda (230 nm): A (234 nm) e a (227 nm); tempo de agitação (15 minutos): B (12 minutos) e b (18 minutos); amostragem (100 mg): C (50 mg) e c (150 mg); volume da alíquota de transferência (10 mL): D (5 mL) e d (20 mL), conforme descrito na Tabela 1. Os procedimentos foram realizados em triplicata e as concentrações de cloridrato de metformina presentes na amostra foram determinadas a partir da curva analítica.

Tabela 1. Combinações ensaiadas para a avaliação da robustez do método analítico.

	Combinação ensaiada							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A ou a	234 nm	234 nm	234 nm	234 nm	227 nm	227 nm	227 nm	227 nm
B ou b	12 min	12 min	18 min	18 min	12 min	12 min	18 min	18 min
C ou c	50 mg	150 mg	50 mg	150 mg	50 mg	150 mg	50 mg	150 mg
D ou d	5 mL	5 mL	20 mL	20 mL	20 mL	20 mL	5 mL	5 mL
	s	t	u	v	w	x	y	z

Os parâmetros **A, a, B, b, C, c, D e d** foram calculados a partir das eq. de 1 a 8:

$$A = \frac{s + t + u + v}{4} \quad (1)$$

$$B = \frac{s + t + w + x}{4} \quad (2)$$

$$C = \frac{s + u + w + y}{4} \quad (3)$$

$$D = \frac{s + t + y + z}{4} \quad (4)$$

$$a = \frac{w + x + y + z}{4} \quad (5)$$

$$b = \frac{u + v + y + z}{4} \quad (6)$$

$$c = \frac{t + v + x + z}{4} \quad (7)$$

$$d = \frac{u + v + w + x}{4} \quad (8)$$

O método é robusto se as condições 1 e 2 forem atendidas (Nogueira et al., 2011).

Condição 1 (para parâmetro A e demais parâmetros)

Teor de cloridrato de metformina (média dos valores obtidos no estudo da precisão intermediária) - 5% deste valor $\leq A \leq$ cloridrato de metformina + 5% deste valor.

Condição 2 (para parâmetro A e demais parâmetros)

$A - a \leq 3\%$ do teor de cloridrato de metformina.

Limite de detecção (LD) e de quantificação (LQ)

O LD e o LQ do cloridrato de metformina foram determinados a partir da curva analítica e foram calculados como $3\sigma/S$ e $10\sigma/S$, respectivamente, onde σ é o desvio

padrão do intercepto com o eixo y de três curvas analíticas e S é a inclinação da curva analítica.

Análise da qualidade das cápsulas de cloridrato de metformina

Teste de identificação

As amostras foram identificadas através de espectrofotometria de absorção no infravermelho (Farmacopeia Brasileira, 2010).

Determinação da variação de peso

A determinação da variação do peso foi realizada de acordo com o preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010), através da pesagem individual de 20 cápsulas, seguida da determinação da variação percentual do conteúdo da cápsula em relação ao peso médio. Adicionalmente calcularam-se os DPR dos ensaios, por ser uma exigência da legislação Brasileira em relação às farmácias de manipulação (Brasil, 2007).

Teste de desintegração

O teste foi realizado conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (2010), avaliando-se seis cápsulas

de cada formulação, nas seguintes condições: meio (água), temperatura ($37 \pm 2^\circ\text{C}$), tempo máximo de ensaio (45 minutos).

Uniformidade de doses unitárias

A determinação da uniformidade de doses unitárias foi realizada pelo método de uniformidade de conteúdo, conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (2010). O conteúdo de cada uma das 10 cápsulas foi transferido para balões volumétricos de 250 mL, adicionou-se 150 mL de água e agitou-se durante 15 minutos. Completou-se o volume com o mesmo solvente e homogeneizou-se. Filtrou-se e diluiu-se, sucessivamente, com água até a concentração de 10 µg/mL. Mediram-se as absorvâncias das soluções em 232 nm, utilizando-se água para ajuste do zero. Calculou-se a quantidade de cloridrato de metformina presente nas cápsulas, através da equação da reta, obtida da curva analítica.

Para avaliação dos resultados, calculou-se o valor de aceitação (VA) de acordo com as equações descritas na Figura 3.

Se $98,5\% \leq \text{Média dos conteúdos individuais (X)} \leq 101,5\%$	$VA = 2,4 \times DP$
Se a média dos conteúdos individuais (X) $< 98,5\%$	$VA = 98,5 - X + 2,4 \times DP$
Se a média dos conteúdos individuais (X) $> 101,5\%$	$VA = X - 101,5 + 2,4 \times DP$

Figura 3. Equações utilizadas no cálculo do Valor de aceitação (VA).

Teste de dissolução

O teste foi realizado conforme descrito na monografia da Farmacopeia Brasileira (2010), para metformina comprimidos, porém utilizaram-se seis cápsulas. As seguintes condições são preconizadas: meio (900 mL de tampão fosfato pH 6,8), temperatura ($37 \pm 2^\circ\text{C}$), aparelhagem (cesta; 100 rpm) e tempo de ensaio (45 minutos). Decorridos 45 minutos, retirou-se 10 mL do meio de dissolução, filtrou-se e diluiu-se, com tampão fosfato pH 6,8 até a concentração de 10 µg/mL. Para a

quantificação do produto, construiu-se curva analítica na faixa de concentração de 1 µg/mL a 13 µg/mL utilizando-se cloridrato de metformina SQR. Mediram-se as absorvâncias das soluções em 233 nm, utilizando-se tampão fosfato pH 6,8 para ajuste do zero. Calculou-se a quantidade de cloridrato de metformina liberada no meio de dissolução, através da equação da reta, obtida da curva analítica.

Doseamento

O teor de cloridrato de metformina nas amostras foi determinado por método espectrofotométrico anteriormente descrito e validado. Transferiu-se quantidade do pó equivalente a 100 mg de cloridrato de metformina para balão volumétrico de 100 mL, adicionou-se 70 mL de água, agitou-se mecanicamente por 15 minutos e completou-se o volume com o mesmo diluente, homogeneizou-se e filtrou-se. Transferiu-se 10 mL do filtrado para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com água. Diluiu-se 10 mL da solução resultante para balão volumétrico de 100 mL e completou-se o volume com o mesmo diluente. Para a quantificação do produto, utilizou-se a curva descrita no estudo da linearidade. Mediram-se as absorvâncias das soluções em 232 nm, utilizando-se água para ajuste do zero. Calculou-se a quantidade de cloridrato de metformina presente nas cápsulas, através da equação da reta, obtida da curva analítica.

RESULTADOS

Validação da metodologia analítica

Seletividade

A seletividade do método foi avaliada através da pesquisa de possíveis interferentes dos excipientes das cápsulas na determinação quantitativa do cloridrato de metformina. Os espectros referentes à solução de metformina SQR, da amostra e do placebo das cápsulas estão representados na Figura 4.

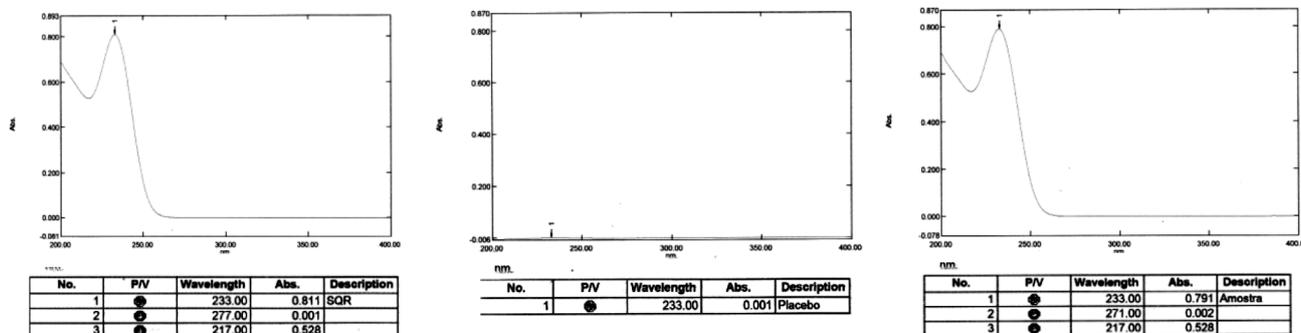


Figura 4. Espectros de absorção molecular na região do ultravioleta das soluções de cloridrato de metformina SQR (1), placebo das cápsulas (2), e amostra (3), nas concentrações de 10 µg/mL.

Intervalo e linearidade

A curva analítica obtida com o cloridrato de metformina SQR e sua respectiva equação da reta estão representadas na Figura 5.

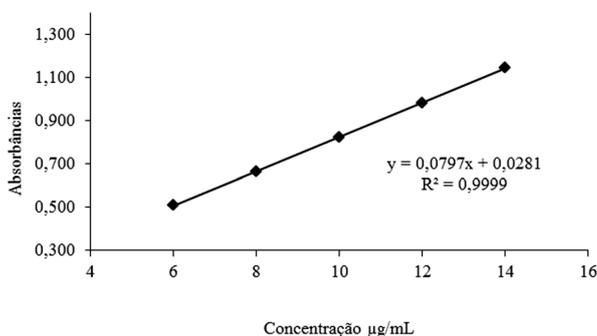


Figura 5. Representação gráfica da curva analítica e da equação da reta do cloridrato de metformina SQR, obtido pelo método espectrofotométrico na região do ultravioleta.

Limite de detecção e limite de quantificação

Os valores obtidos para o LD e LQ foram de 0,84 µg/mL e 2,52 µg/mL, respectivamente.

Precisão

Os valores obtidos nos estudos da repetibilidade e da precisão intermediária estão descritos nas Tabelas 2 e 3, respectivamente.

Tabela 2. Resultados obtidos na análise da repetibilidade do método espectrofotométrico para cápsulas de cloridrato de metformina.

Concentração da amostra	Teor	Média + desvio padrão	DPR
	(%)		(%)
6 µg/mL	104,29	103,58 + 0,69	0,67
	103,23		
	103,44		
	103,78		
10 µg/mL	104,03	103,74 + 0,12	0,12
	103,65		
	103,01		
	102,46		
14 µg/mL	102,46	103,05 + 0,80	0,80
	103,92		
ANOVA	F calculado		F tabelado (p = 0,05)
Entre concentrações	1,31		5,14

Tabela 3. Resultados obtidos na análise da precisão intermediária do método espectrofotométrico para cápsulas de cloridrato de metformina.

Dia	n	Analista 1	Analista 2	Média + desvio padrão	DPR (%)
		Teor (%)	Teor (%)		
1	1	103,83	104,16	103,76 + 0,26	0,25
	2	103,79	103,39		
	3	103,60	103,78		
2	1	105,05	103,14	104,14 + 0,74	0,71
	2	103,90	104,16		
	3	103,65	104,92		
3	1	104,40	103,59	103,77 + 0,44	0,42
	2	103,20	103,60		
	3	104,16	103,65		
ANOVA	F calculado		F tabelado (p = 0,05)		
Inter-dias	1,05		3,68		
Inter-dias analista 1	0,49		5,14		
Inter-dias analista 2	0,52		5,14		

Exatidão

Os resultados experimentais médios, obtidos para os testes de exatidão, por recuperação, estão descritos na Tabela 4.

Tabela 4. Resultados obtidos na análise da exatidão do método espectrofotométrico para cápsulas de cloridrato de metformina.

Amostra	Concentração final (µg/mL)	Média da quantidade de SQR recuperada	
		(µg/mL)	(%)
R1	7,5	7,54	100,58
R2	10	10,16	101,63
R3	12,5	12,66	101,25

Robustez

Nas Tabelas 5 e 6 estão expressos os valores encontrados no estudo da robustez, para a condição 1 e 2, respectivamente.

Tabela 5. Combinações ensaiadas para a avaliação da robustez do método analítico, avaliando-se a condição 1.

Resultados	Combinação ensaiada							
	s	t	u	v	w	x	y	z
Teor (%)	103,25	104,52	103,98	102,89	104,12	103,72	104,58	104,39
Faixa aceitável de teor de cloridrato de metformina (103,89% + 5%) = 98,70% < A < 109,08%								

Condição 1 (para parâmetro A e demais parâmetros)

Teor de cloridrato de metformina - 5% deste valor $\leq A \leq$ Teor de cloridrato de metformina + 5% deste valor
 103,89% - 5% deste valor $\leq A \leq$ 103,89% + 5% deste valor
 98,70% $\leq A \leq$ 109,08%

Tabela 6. Combinações ensaiadas para a avaliação da robustez do método analítico, avaliando-se a condição 2.

Teor de cloridrato de metformina		Diferenças	Limite para diferenças (3% * 103,89%)	
A (%)	a (%)	A - a (%)	3,12%	Robusto
103,66	104,20	-0,54		
B (%)	b (%)	B - b (%)	3,12%	Robusto
103,90	103,96	-0,06		
C (%)	c (%)	C - c (%)	3,12%	Robusto
103,98	103,88	0,10		
D (%)	d (%)	D - d (%)	3,12%	Robusto
104,18	103,68	0,51		
Média (%) (A, a, B, b, C, c, D, d)		103,93		
DP		0,20		
DPR (%)		0,19		

Condição 2 (para parâmetro A e demais parâmetros)

A - a \leq 3% do teor de cloridrato de metformina
 A - a \leq 3% de 103,89%
 A - a \leq 3,12%

Análise da qualidade das cápsulas de cloridrato de metformina

Teste de identificação

Todas as amostras analisadas cumpriram com o teste de identificação a que foram submetidas.

3.2.2. Determinação da variação de peso

Na Tabela 7 estão apresentados os valores referentes ao peso médio, seus limites de variação permitidos, o maior e o menor peso encontrado e o DPR para cada uma das amostradas analisadas.

Tabela 7. Variação de peso das cápsulas de cloridrato de metformina 500 mg .

Farmácias	Peso Médio (g) (+ Limite de variação)	Maior peso encontrado (g)	Menor peso encontrado (g)	DPR (%)
A	0,5368 g (+ 0,5770 g e 0,4965 g)	0,5601	0,5254	1,54
B	0,5036 g (+ 0,5414 g e 0,4658 g)	0,5149	0,4886	1,30
C	0,7960 g (+ 0,8557 g e 0,7363 g)	0,8305	0,7583	2,20
D	0,5902 g (+ 0,6345 g e 0,5459 g)	0,6166	0,5682	3,08
E	0,5163 g* (+ 0,5550 g e 0,4776 g)	0,5399	0,4766	4,12
F	0,6016 g (+ 0,6468 g e 0,5565 g)	0,6376	0,5799	2,30
G	0,5484 g** (+ 0,5896 g e 0,5073 g)	0,6351	0,5332	4,03

* Duas unidades fora do limite inferior; ** Uma unidade fora do limite superior.

Teste de desintegração

Na Tabela 8 estão descritos os valores encontrados para o teste de desintegração das cápsulas de cloridrato de metformina.

Tabela 8. Resultados do teste de dissolução, desintegração e doseamento das cápsulas de cloridrato de metformina 500 mg .

Farmácias	Dissolução (%)	Desintegração (min.)	Doseamento Média (%) - (DPR)
A	95,55	4	103,49 – (0,89)
B	101,42	4	97,93 – (0,26)
C	120,90	5	119,29 – (0,86)
D	98,46	3	99,36 – (0,87)
E	85,05	3	82,68 – (0,63)
F	101,27	4	97,18 – (1,04)
G	102,01	4	102,52 – (0,92)

Teste de dissolução

Os resultados médios obtidos no teste de dissolução das cápsulas de cloridrato de metformina estão apresentados na Tabela 8.

Doseamento

Os resultados obtidos no doseamento das cápsulas de cloridrato de metformina encontram-se descritos na Tabela 8.

Uniformidade de doses unitárias

Na Tabela 9 estão descritos os valores obtidos no teste de uniformidade de doses unitárias.

Tabela 9. Resultados do teste de uniformidade de conteúdo das cápsulas de cloridrato de metformina 500 mg .

Farmácias	Média (%)	Menor valor (%)	Maior valor (%)	DP	VA
A	104,40	101,11	108,15	1,94	7,56
B	98,17	87,78	109,75	5,73	13,75
C	119,65	109,39	126,79	6,03	32,62
D	94,52	90,86	100,74	2,88	10,89
E	88,63	81,23	103,58	6,89	26,40
F	95,51	91,73	98,52	2,54	8,69
G	104,37	100,86	107,78	2,50	8,87

DISCUSSÃO

A validação tem como finalidade assegurar que determinado procedimento analítico forneça resultados reprodutíveis e confiáveis, que sejam adequados aos fins para os quais tenham sido planejados (Matioli et al., 2004). Para tanto, deve apresentar especificidade, linearidade, intervalo, precisão, limite de quantificação, sensibilidade e exatidão adequados à análise (Brasil, 2003). Uma metodologia analítica validada pode ser utilizada como pré-requisito para o estudo de estabilidade bem como para o próprio controle de qualidade, além de ser utilizada na validação de limpeza e processo (Silva Filho et al., 2006).

A seletividade do método foi avaliada através da pesquisa de possíveis interferentes dos excipientes das cápsulas na determinação quantitativa do cloridrato de metformina. De acordo com os espectros obtidos para a SQR e o placebo (Figura 4), constatou-se que o método foi específico, demonstrando não haver interferência dos excipientes no comprimento de onda máxima de absorção.

O intervalo e a linearidade foram obtidos através da elaboração da curva analítica. Segundo a RE 899/2003, o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação é de 0,99, sendo obtido um valor de 0,9997 para o intervalo e de 0,9999 para a curva analítica (Brasil, 2003). A curva obtida, utilizando-se as concentrações de 6 a 14 µg/mL, demonstrou que os resultados são diretamente proporcionais à concentração do analito, podendo ser utilizada para a interpolação dos valores obtidos como a solução amostra (Figura 5). O estudo da análise de variância (ANOVA) demonstrou que a mesma apresenta regressão linear significativa, não havendo desvio de linearidade significativo (p=0,05), garantindo-se assim a linearidade do método.

A boa sensibilidade do método espectrofotométrico foi confirmada através da determinação dos limites de detecção (LD) (0,84 µg/mL) e limite de quantificação (LQ) (2,52 µg/mL) do cloridrato de metformina.

A precisão do método analítico determina o grau de concordância entre resultados de medidas independentes em torno de um valor central, efetuada várias vezes em uma

amostra homogênea. O valor de DPR (%), preconizado para este estudo é de 2%, segundo a The United States Pharmacopeia (2011), e de 5%, segundo a resolução RE nº 899/2003 (Brasil, 2003; The United States Pharmacopeia, 2011). A repetibilidade foi avaliada em um único dia e pelo mesmo analista, sendo que o valor médio encontrado para esse ensaio foi de 103,46% e desvio padrão relativo de 0,53% (Tabela 2). A precisão intermediária foi determinada em três dias diferentes por dois analistas. Os valores experimentais obtidos para a determinação da precisão intermediária do cloridrato de metformina encontram-se descritos na Tabela 3. O desvio padrão relativo médio para este ensaio foi de 0,46%.

Os valores obtidos na determinação da precisão foram avaliados estatisticamente por análise de variância (ANOVA), a fim de determinar se existe diferença significativa entre as respostas encontradas nas diferentes concentrações e dias analisados. Conforme demonstrado nas Tabelas 2 e 3, o $F_{\text{calculado}}$ foi menor do que o F_{tabelado} , indicando que não há diferença significativa entre os resultados encontrados ($p=0,05$). Esta análise foi realizada no sentido de complementar a avaliação do ensaio, porém cabe ressaltar que os critérios que estabelecem o aceite da precisão do método estão preconizados na Resolução RE nº 899, anteriormente citada.

A exatidão do método analítico representa o grau de concordância entre o valor médio obtido de uma série de resultados e o valor de referência aceite. Os limites preconizados para este teste são de 98% a 102% (Brasil, 2003; ICH, 2005; The United States Pharmacopeia, 2011). De acordo com os resultados obtidos, verificou-se que para todas as concentrações experimentais utilizadas os teores percentuais de recuperação encontram-se dentro dos limites especificados, o que permite concluir a adequada exatidão do método (Tabela 4).

A robustez do método indica sua capacidade em fornecer resultados inalterados quando está sujeito a pequenas e deliberadas alterações no método analítico. Os parâmetros analíticos modificados não apresentaram mudanças significativas no teor da amostra e da SQR. Conforme podemos observar nas Tabelas 5 e 6, o método atendeu as condições 1 e 2, sendo portanto considerado robusto.

Tanto os medicamentos industrializados como os manipulados devem ser analisados por um processo de controle de qualidade. Trata-se de um conjunto de operações (programação, coordenação e execução), que tem por objetivo verificar a conformidade das preparações, visando assegurar as características do produto, de modo que cada unidade esteja de acordo com as especificações vigentes na legislação (Peixoto et al., 2005; Brasil, 2001).

A partir dos testes de controle de qualidade obtidos, verificou-se que todas as amostras analisadas foram aprovadas no teste de identificação, pois apresentaram máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles obtidos no espectro da SQR, preparado de maneira idêntica.

A determinação de peso médio visa informar a homogeneidade por unidade do lote e constitui-se numa ferramenta essencial para o controle de qualidade de rotina das farmácias de manipulação, podendo indicar a ineficiência do processo de pesagem e enchimento

(Paludetti, 2005). Segundo a Farmacopeia Brasileira (2010), a variação de peso aceitável para cápsula de gelatina dura, contendo doses superiores a 300 mg é de $\pm 7,5\%$, não sendo permitidas mais do que duas unidades fora dos limites especificados e nenhuma unidade acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas nos limites de variação.

Todas as amostras cumpriram com o teste, conforme demonstrado na Tabela 7, porém as cápsulas manipuladas pelas farmácias E, apresentaram duas unidades fora do limite inferior (0,4766 g e 0,4754 g) e as da farmácia G, uma unidade fora do limite superior (0,6331 g). O desvio padrão relativo (DPR) é um bom indicativo da homogeneidade dos resultados obtidos em um estudo. As farmácias que apresentaram maior valor de DPR foram a E e a G, as mesmas que tiveram problemas em relação ao peso médio (Tabela 7). A literatura preconiza que seja utilizado o menor tamanho de cápsula que se ajuste a quantidade do pó a ser encapsulado (Ansel et al., 2008). No presente estudo a farmácia C foi a que utilizou a cápsula de tamanho maior, porém apresentou resultados homogêneos em relação ao peso médio.

A desintegração é definida como o estado no qual nenhum resíduo da unidade, salvo o invólucro de gelatina, permaneça na tela metálica do aparelho. De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), o tempo máximo permitido para a desintegração de cápsulas duras é de 45 minutos. Todas as amostras cumpriram com as especificações do teste, sendo que o tempo máximo para a desintegração das cápsulas manipuladas das sete farmácias foi de 5 minutos (farmácia C), conforme demonstrado na Tabela 8.

Para que os medicamentos possam exercer seus efeitos terapêuticos, é necessário que as moléculas do fármaco sejam dissolvidas nos fluidos gastrintestinais e, dessa forma, estejam disponíveis para a absorção (González et al., 1995). Embora os adjuvantes farmacotécnicos sejam considerados inertes, do ponto de vista farmacológico, podem exercer influência significativa na velocidade de liberação do fármaco (Villanova et al., 1999). Dentre todos os testes de controle empregados neste tipo de apresentação o ensaio de dissolução mostra-se como um dos mais importantes, congregando na sua interpretação conceitos físico-químicos diversos (Yuksel et al., 2000). A Farmacopeia Brasileira (2010) estabelece que, no mínimo, 75% (Q) do fármaco deve estar liberado no meio de dissolução, após 45 minutos. Os resultados obtidos foram interpolados na curva analítica ($y = 0,08x + 0,011$), previamente construída, garantindo linearidade na faixa de 1 a 13 $\mu\text{g/mL}$ ($r^2 0,999$), não apresentando desvio de linearidade ($p=0,05$), quando avaliada pela Análise de Variância (ANOVA) e apresentando limite de quantificação de 0,9 $\mu\text{g/mL}$. Conforme demonstrado na Tabela 8, todas as amostras analisadas foram aprovadas no primeiro estágio (E1), pois apresentam mais de 78,75% do fármaco dissolvido.

Os limites especificados pela Farmacopeia Brasileira (2010), para o doseamento desse fármaco, são de, no mínimo, 95,0% e, no máximo, 105,0% da quantidade declarada de cloridrato de metformina, sendo utilizado este critério para aprovação, pois não existe monografia oficial para a forma farmacêutica em estudo. As cápsulas manipuladas pelas farmácias A, B, D, F e G foram aprovadas

no ensaio, porém as cápsulas das farmácias C e E foram reprovadas (Tabela 8). A metformina é comercializada na forma de cloridrato, porém seu teor não é expresso na forma de base livre, como acontece com alguns fármacos (Gianotto et al., 2008). Analisando os valores obtidos na determinação de peso médio, uniformidade, dissolução e doseamento das cápsulas manipuladas pela farmácia C, podemos inferir que provavelmente o erro está associado à conversão, desnecessária, do cloridrato de metformina à sua base livre. Nas cápsulas manipuladas pela farmácia E, o erro deve estar associado à pesagem do ativo, já que em todos os testes o teor encontra-se abaixo dos limites.

O método mais utilizado para o preparo de cápsulas manipuladas é o chamado processo de produção por nivelamento de superfície, sendo a acuidade da técnica do operador determinante na distribuição dos pós da forma mais homogênea possível (Pissatto et al., 2006). Mesmo que as cápsulas apresentem um peso médio uniforme, isso não garante que tenham a mesma dose, pois o processo de mistura pode não ser homogêneo.

A Farmacopeia Brasileira (2010) considera as mostras aprovadas na primeira etapa do teste de uniformidade de doses unitárias se o valor de aceitação (VA), calculado para as 10 primeiras unidades, não for maior que L1 (valor máximo permitido para o valor de aceitação), que neste caso é 15. Se o VA for maior que L1, testar mais 20 unidades e calcular novamente o VA. O produto cumpre com o teste se o VA final, calculado para as 30 unidades testadas não é maior que L1 e a quantidade de componente ativo de nenhuma unidade individual é menor que $(1 - L2 \times 0,01)M$ ou maior que $(1 + L2 \times 0,01)M$, sendo $L2 = 25,0$.

As cápsulas manipuladas pelas farmácias A, B, D, F e G, apresentaram o VA menor do que 15, estando aprovadas na primeira etapa do teste, conforme demonstrado na Tabela 9. Para as cápsulas das farmácias C e E, foi necessário testar mais 20 unidades, sendo que apresentaram os seguintes valores médios e DP $121,45 \pm 7,01$ e $87,71 \pm 7,63$, respectivamente. O valor do VA para a farmácia C foi de 33,97 e de 26,05 para a E, estando ambas reprovadas.

A partir dos resultados obtidos é possível concluir que o método validado mostrou-se seletivo, linear, preciso, exato e robusto, podendo ser utilizado para a determinação quantitativa de cloridrato de metformina, em cápsulas.

As cápsulas produzidas pelas farmácias A, B, D, F e G cumpriram com todos os requisitos mínimos de controle de qualidade, estando aprovadas. As cápsulas das farmácias C e E apresentaram desvios de qualidade e foram reprovadas nos testes de doseamento e uniformidade de doses unitárias, podendo comprometer a qualidade e a saúde do consumidor.

ABSTRACT

Validation of analytical method for quality control of compounded metformin hydrochloride capsules

Compounding pharmacies have proved a useful alternative when patients look for drugs fitted to their needs in dose number and size, or for less expensive drug forms, leading to an increasing demand for compounded

drugs. However, despite the advantages, these drugs do not always go through a strict quality control, which may be detrimental to patient care. The aim of the present study is to validate an analytical method and use it to assess the quality of metformin hydrochloride capsules obtained from seven different compounding pharmacies in Santa Maria, RS (Brazil). The validated method proved to be selective, linear, precise, accurate and robust and can be used for the quantitative determination of metformin hydrochloride in capsules. The capsules compounded by pharmacies A, B, D, F and G met the minimum requirements of quality control, while those from pharmacies C and E failed in the assays of dose and uniformity of dosage units.

Keywords: Quality Control. Metformin. Compounding. Validation.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ansel HC, Popovich NG, Allen JRLV. Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems. 8 ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2008. p. 453-65.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC 33, de 19 de abril de 2000. Aprova o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos em farmácias. Diário Oficial da União, Brasília, 08 jan. 2001.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Dispõe o guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, Brasília, 02 jun 2003.

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 67 de 08.10.2007: boas práticas de manipulação de preparações magistrais e oficinais para uso humano em farmácia. Diário Oficial da União, Brasília, 01 de outubro de 2007.

Ermer J. Validation in pharmaceutical analysis. Part I: an integrated approach. J Pharm Biomed Anal. 2001;24(5-6):755-67.

Farmacopeia Brasileira. 5 ed. Brasília: Agencia Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA; 2010.

Gianotto EAS, Machado HT, Miglioranza B, Fregoneiry MM. Qualidade de Cápsulas de Cloridrato de Fluoxetina Manipuladas em Farmácias. Lat Am J Pharm. 2008;27(5):727-33.

González MS, Retaco P, Pizzorno MT, Volonté MG. Estudio comparativo de disolución de comprimidos de clorhidrato de propranolol. Rev Farm Bioquím Univ SP. 1995;31(2):79-83.

Harvey R, Champe P. Farmacologia ilustrada. 2 ed. Porto Alegre: Artmed; 2002.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial - INMETRO. Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos: DOQ-CGCRE-008, Revisão: 01. Rio de Janeiro: INMETRO; 2003.

- International Conference on Harmonisation - ICH. Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: Text and Methodology – *Q2(R1)*: Current Step 4 version Parent Guideline Dated 27 October 1994 (Complementary Guideline on Methodology dated 6 November 1996 incorporated in November 2005). Geneva: ICH Steering Committee; Commission of the European Communities; 2005.
- Korolkovas A, França FFAC. Dicionário terapêutico Guanabara 2008-2009. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008.
- Külkamp IC. Avaliação da qualidade de cápsulas manipuladas de antihipertensivos. Validação de metodologias analíticas: titulométrica, espectrofotométrica e cromatográfica [Dissertação]. Florianópolis: Curso de Pós-Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina; 2003.
- Larini L. Fármacos e medicamentos. Porto Alegre: Artmed; 2008.
- Matioli G, Valentini SR, SommerWA. Validação de métodos analíticos na quantificação de comprimidos de captopril - comparação de metodologias para um programa de garantia da qualidade. *Acta Scientiarum Health Sci.* 2004;16(2):357-64.
- Metha AC. Quality management in drug analysis. *Analyst.* 1997;122:83R-88R. DOI: 10.1039/A700563F.
- Nogueira R, Wollinger W, Silva TE, Oliveira LM, Rego ECP, Moreira GF, Barin JS, Laporta LV, Mesko MF, Bittencourt CF, Rodrigues JM, Cunha VS. Validation of a liquid chromatographic method for determination of related substances in a candidate certified reference material of captopril. *Braz J Pharm Sci.* 2011;47(2):351-62.
- Paludetti LA. Controle de qualidade de cápsulas: apenas o peso médio é suficiente? *Intern J Pharm Comp.* 2005;7(5):234-5.
- Peixoto MM, Freitas Jr AS, Santos CAA, Caetitté Jr E. Avaliação da qualidade de comprimidos de captopril dispensados em Feira de Santana-BA. *Infarma.* 2005;40(13-14):69-73.
- Petry RD, De Souza TP, Da Silva FA, Heberlé G, Da Silva WB, Fleck JD, Bassani VL, González OG, Petrovick PR, Guterres SS. Influência de adjuvantes e técnica de enchimento sobre as características farmacêuticas de cápsulas de gelatina dura contendo Teofilina. *Cad Farm.* 1998;14(1/2):3-19.
- Pissato S, Prado JN, Morais EC, Foppa T, Murakami FS, Silva MAS. Avaliação da qualidade de cápsulas de fluoxetina. *Acta Farm. Bonaerense.* 2006;25(4):550-4.
- Ribani M, Bottoli CBG, Collins CH, Jardim ICS, Melo LFC. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. *Quím Nova.* 2004;27(5):771-80.
- Silva Filho CA, Araújo JCF, Silva PRP. Metodologia analítica por titulometria para paracetamol - Parte I. *Controle de Contaminação.* 2006;8(85):30-4.
- Silva RF. Indicadores de desempenho em sistemas de garantia de qualidade de produção de medicamentos. Uma contribuição para aplicação em farmácias de manipulação [Dissertação]. Niterói: Universidade Federal Fluminense; 2007.
- Silva ACP, Oliveira CVS, Cavalheiros MVS, Miranda MCC. Desafios para a rede nacional de laboratórios de vigilância sanitária: o caso dos medicamentos manipulados. *Ciênc Saúde Coletiva.* 2010;15(Supl. 3). DOI: 10.1590/S1413-81232010000900012
- Storpirtis S, Consiglieri VO. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos, aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. *Rev Farm Bioquim Univ.* 1995;31(2):63-70.
- The United States Pharmacopeia. 34th ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention; 2011.
- Villanova JCO, Brandão MAF, Reis JEP, Macêdo JAB, Pinho JJRG. Estudo comparativo de formas farmacêuticas sólidas contendo dipirona comercializadas no mercado nacional: teste e cinética de dissolução. *Rev Bras Ciênc Farm.* 1999;35(1):87-93.
- Yuksel N, Kani AE, Baykara T. Comparacion of in vitro dissolution profiles by ANOVA-based, model-dependent and independent methods. *Int J Pharmac.* 2000;209:57-67.

Recebido em 13 de junho de 2012

Aceito para publicação em 30 de outubro de 2012