



Desenvolvimento de teste de dissolução e estudo comparativo de comprimidos e cápsulas magistrais contendo anlodipino

Malesuik, M.D.¹; Cardoso, S.G.^{1*}; Lanzasova, F.A.¹;

Bajerski, L.¹; Dorigoni, E.¹

¹Departamento de Farmácia Industrial, Universidade Federal de Santa Maria, UFSM,
Santa Maria, RS, Brazil

Recebido 19/04/06 / Aceito 19/09/06

RESUMO

O anlodipino é um fármaco amplamente utilizado para o tratamento da hipertensão arterial e da angina, e encontra-se disponível, no mercado brasileiro, sob a forma de comprimidos e cápsulas magistrais. O presente estudo objetivou desenvolver as condições para o teste de dissolução, bem como realizar estudo comparativo visando avaliar a intercambiabilidade de alguns produtos contendo o fármaco por meio de testes físicos e físico-químicos, tais como: variação de peso, desintegração, dureza, friabilidade, identificação, teor, uniformidade de conteúdo, teste e perfil de dissolução. No desenvolvimento do método de dissolução, diversas condições foram testadas e os seguintes parâmetros foram considerados satisfatórios: ácido clorídrico 0,01N (500 mL, a 37°C ± 0,5°C) como meio de dissolução, aparato cesta e pá, respectivamente para cápsulas e comprimidos, e rotação de 50 rpm. Realizou-se estudo comparativo de cápsulas manipuladas por cinco diferentes farmácias, denominadas de A, B, C, D e E; bem como de comprimidos obtidos de cinco laboratórios produtores diferentes, denominados de F, G, H, I e J. Os produtos B (cápsula) e H (comprimido) foram reprovados nos teste de uniformidade de conteúdo e dureza, respectivamente. Todos os demais produtos apresentaram resultados satisfatórios nos testes a que foram submetidos.

Palavras-chave: anlodipino; dissolução; equivalência farmacêutica; controle de qualidade.

INTRODUÇÃO

O anlodipino (AND), classificado como dihidropiridina de terceira geração, é um agente amplamente utilizado no tratamento da hipertensão arterial e da angina. Age inibindo os canais de cálcio com posterior redução da resistência vascular periférica (Bisognano et al., 2004; Eisenberg et al., 2004). Quimicamente corresponde a (4R,S)-3-etil-5-metil-2-(2-amino-etóxi-metil) 4-(2-clorofenil) 1,4-dihidro-6-metil piridino 3,5-dicarboxilato monobenzo sulfonato (Figura 1). Apresenta-se como um pó branco,

pouco solúvel em água e 2-propanol, solúvel em metanol e em etanol (*British Pharmacopoeia*, 2003). Encontra-se comercialmente disponível sob a forma de comprimidos e cápsulas magistrais. As formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral são amplamente prescritas na prática médica e a absorção de fármacos a partir dessas formas depende da liberação dos mesmos da sua forma farmacêutica, da sua dissolução ou solubilização sob condições fisiológicas e de sua permeabilidade através do trato gastrointestinal. (Chowdary & Rajyalakshmi, 1987; Marcolongo, 2003, Pita et al., 2004). Desse modo, os testes de dissolução *in vitro* constituem um dos instrumentos essenciais para avaliação das propriedades biofarmacotécnicas das formulações. Fornecem, também, informações úteis tanto para a pesquisa e desenvolvimento, como para a produção e controle de qualidade. No desenvolvimento farmacotécnico permitem a avaliação de novas formulações, verificação da estabilidade e possibilitam estudos de correlação *in vitro* – *in vivo*. Durante a fase de produção e controle de qualidade esses testes permitem detectar desvios de fabricação, de uniformidade do produto e de reprodutibilidade lote a lote (Marques & Brown, 2002). Para fármacos que não possuem monografia oficial existe necessidade de desenvolver ensaios de dissolução que possam prever o comportamento *in vivo* dos mesmos. A avaliação do perfil de dissolução do fármaco (porcentagem de fármaco dissolvido *versus* tempo) em diferentes meios é recomendada como suporte no desenvolvimento dos testes de dissolução (Manadas et al., 2002). No mercado brasileiro vários laboratórios farmacêuticos e inúmeras farmácias magistrais comercializam produtos contendo AND. Fatores econômicos tornam interessante a utilização de genéricos, similares e manipulados como alternativa aos produtos originais, desde que garantam eficácia e segurança equivalentes. A Legislação Brasileira em vigor (Brasil, 2003) estabelece que para um medicamento ser registrado como similar ou genérico é necessário que se comprove a equivalência farmacêutica em relação ao medicamento de referência indicado pela ANVISA, conforme guia para realização de estudo e elaboração de relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução (Brasil, 2004). A comparação de perfis de dissolução é útil nos caso em que se deseja conhecer o comportamento de dois produtos an-

*Autor correspondente: Simone Gonçalves Cardoso - Departamento de Farmácia Industrial - Universidade Federal de Santa Maria - UFSM - Prédio 26, Sala 1105 - Campus - CEP: 97119-900 - Santa Maria - RS, Brasil - Fone: (55) 3220-8807 - fax: (55) 3220-9371 - e-mail: simonegc@ccs.ufsm.br

tes de submetê-los a ensaios de biodisponibilidade, para isentar as menores dosagens desses estudos e nos casos de alterações pós-registros (Rodrigues et al, 2006). Até o momento não existem monografias farmacopéicas para comprimidos e cápsulas contendo AND, não havendo, também, métodos de dissolução descritos na literatura para essas formas farmacêuticas. Dentro deste contexto, o presente trabalho teve dois objetivos principais: desenvolver e otimizar as condições a serem utilizadas no teste de dissolução de AND em cápsulas manipuladas e comprimidos, e, realizar um estudo comparativo de alguns produtos contendo AND, disponíveis no mercado nacional na forma de cápsulas manipuladas e comprimidos, visando avaliar a intercambialidade entre os mesmos.

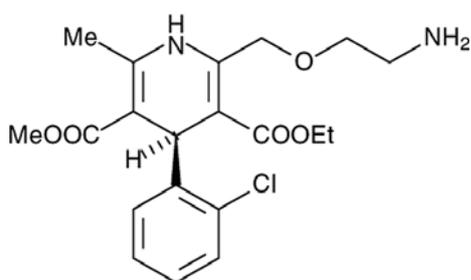


Figura 1 – Estrutura química do anlodipino.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras e Substância Química de Referência (SQR)

Foram avaliadas cápsulas manipuladas por cinco diferentes farmácias, denominadas A, B, C, D e E, e cinco especialidades farmacêuticas na forma de comprimidos, analisando-se um lote de cada fabricante, denominados de F (medicamento referência - Norvasc[®]), G, H, I e J. Todos os produtos continham, declarado segundo o fabricante, 5 mg de anlodipino por unidade. Utilizou-se SQR com potência de 101,42%, adquirida da Syntetica, cuja pureza foi comprovada através de RMN¹³C, RMN¹H, infravermelho e cromatografia líquida de alta eficiência - DAD.

Reagentes

Acetonitrila (Tedia[®]), ácido clorídrico (Tedia[®]), ácido fosfórico (Merck[®]), água ultra-pura e destilada, metanol (Tedia[®]), trietilamina (Merck[®]), fosfato de potássio (Tedia[®]), hidróxido de sódio 1N (Merck[®]).

Desenvolvimento do Teste de dissolução

Inicialmente foram testadas diversas condições de dissolução, as quais estão indicadas na Tabela 1, utilizando

Tabela 1 – Condições avaliadas no desenvolvimento do teste de dissolução de cápsulas (condições ímpares) e comprimidos (condições pares) contendo anlodipino.

Condição	Aparato	Meio (500 mL)	Velocidade (rpm)
I	cesta	HCl 0,1N	50
II	pá	HCl 0,1N	50
III	cesta	HCl 0,1N	75
IV	pá	HCl 0,1N	75
V	cesta	Tampão fosfato pH 6,8	50
VI	pá	Tampão fosfato pH 6,8	50
VII	cesta	Tampão fosfato pH 6,8	75
VIII	pá	Tampão fosfato pH 6,8	75
IX	cesta	HCl 0,01N	50
X	pá	HCl 0,01N	50
XI	cesta	HCl 0,01N	75
XII	pá	HCl 0,01N	75

equipamento de dissolução previamente calibrado, da marca Pharmatest WII, modelo VK 7000, equipado com seis cubas. Para cada condição realizou-se perfil de dissolução, com doze unidades de cada produto, retirando-se alíquotas nos tempos de 3, 5, 10, 15, 20, 30 e 45 minutos, e repondo-se o mesmo volume de meio a $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. As alíquotas coletadas foram filtradas em papel filtro quantitativo (faixa preta - Schleicher & Schuell) e membrana de acetato de celulose 0,45 mm (Whatman). A concentração do fármaco nos meios de dissolução foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência e espectrofotometria no ultravioleta (Malesuik et al., 2006). As condições cromatográficas utilizadas foram coluna C_{18} , fase móvel constituída de ácido fosfórico 0,1% (v/v) pH 3,0 e acetonitrila (60:40, v/v) com vazão de 1 mL/minuto e detecção em 238 nm, empregando equipamento Shimadzu LC 10 (Shimadzu, Kyoto, Japão). As análises espectrofotométricas foram realizadas em equipamento Spectronic Genesis 2 UV-VIS (Milton Roy Co., USA), utilizando como diluentes HCl 0,1N a 1% em metanol e água destilada, com leituras em 238 nm. A validação incluiu a avaliação da especificidade, linearidade, precisão, exatidão, influência do filtro e estabilidade do AND no meio de dissolução (ICH, 1996; Marques & Brown, 2002; Marcolongo, 2003; USP 29, 2006,).

Especificidade

Amostras simuladas de excipientes (ASE) de comprimidos e cápsulas foram preparadas e submetidas às condições indicadas na Tabela 2. Após 30 minutos, as amostras foram filtradas e avaliadas por ambos os métodos descritos.

Linearidade

Foi estabelecida através da construção de curvas de calibração, obtidas com soluções da SQR nas concentrações de 3, 5, 10, 20 e 30 $\mu\text{g/mL}$, preparadas em HCl 0,01N e avaliadas por ambos os métodos descritos.

Precisão

Seis cápsulas (Produto A) e seis comprimidos (Produto F) foram avaliados no mesmo dia (intra-dia) e em um segundo dia (entre-dias), empregando as condições descritas na Tabela 2. A percentagem dissolvida de AND foi determinada por espectrofotometria no ultravioleta e por cromatografia líquida de alta eficiência para comprimidos, e somente por cromatografia líquida de alta eficiência para cápsulas. Os coeficientes de variação e as médias foram calculados.

Exatidão

Foi avaliada através do percentual de recuperação de quantidades conhecidas de SQR (10, 100 e 150% da quantidade declarada de AND) adicionadas às ASE de comprimidos e cápsulas. As amostras foram submetidas às condições descritas na Tabela 2 e avaliadas por ambos os métodos descritos.

Avaliação da influência do filtro

Foram preparadas soluções da SQR e de ASE de comprimidos e cápsulas, em HCl 0,01N, as quais foram avaliadas por espectrofotometria no ultravioleta antes e após

Tabela 2 – Condições otimizadas para avaliação da porcentagem dissolvida de anlodipino em cápsulas e comprimidos.

Parâmetros	
Meio	HCl 0,01N
Volume	500 mL
Aparato	Pá (comprimido) e cesta (cápsula)
Velocidade de rotação	50 rpm
Volume coletado	5 mL
Tempo de coleta	30 minutos
Temperatura	$37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$

os seguintes processos de filtração: filtração com filtro quantitativo, filtração com membrana de acetato de celulose 0,45 mm e filtração com filtro quantitativo mais membrana de acetato de celulose, simultaneamente.

Avaliação da estabilidade do AND no meio de dissolução

Foram preparadas soluções da SQR e de ASE de comprimidos e cápsulas, em HCl 0,01N, as quais foram mantidas em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por um período de 24 horas, e à temperatura de $37,0 \pm 0,5$ °C, por 2 horas.

Estudo comparativo

O estudo foi realizado segundo Resolução RE n° 310 (Brasil, 2004), que trata do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica. Os testes de variação de peso, desintegração e resistência mecânica foram realizados conforme métodos gerais descritos na quarta edição da Farmacopéia Brasileira (1988). A identificação do princípio ativo, a análise do teor e o teste de uniformidade de conteúdo foram realizados por espectrofotometria na região do ultravioleta (Malesuik et al., 2006). O teste de dissolução foi realizado com seis unidades de cada produto, utilizando as condições previamente otimizadas e descritas na Tabela 2. O perfil de dissolução foi realizado com doze unidades de cada produto, empregando as mesmas condições descritas na Tabela 2, coletando-se, no entanto, alíquotas nos tempos de 3, 5, 10, 15, 20, 30 e 40 minutos. A eficiência de dissolução (ED) foi calculada a partir das curvas de porcentagem de fármaco dissolvido *versus* tempo (Khan & Rhodes, 1975). A comparação entre os valores de ED dos produtos avaliados foi realizada através de Análise de Variância (ANOVA) e teste de Tukey.

RESULTADOS

Desenvolvimento do Teste de dissolução

Para definir os parâmetros adequados para avaliar a dissolução de AND em cápsulas e comprimidos, diferentes aparatos, meios e rotações foram testados (Tabela 1). Os perfis de dissolução obtidos para as cápsulas denominadas A e para os comprimidos denominados F (referência) estão apresentados na Figura 2. Para os perfis gerados em tampão fosfato pH 6,8 verificou-se dissolução incompleta do AND, enquanto que em HCl 0,1N, nos diferentes aparatos e rotações, houve total dissolução do fármaco nos primeiros minutos do teste, condição não relevante para uma possível comparação posterior de perfis, e devido à menor estabilidade do fármaco em meio fortemente ácido. Com HCl 0,01N a liberação foi considerada adequada e esse foi o meio escolhido.

Especificidade

Nas Figuras 3 e 4 estão apresentados, respectivamente, os espectros de absorção e os cromatogramas das ASE de cápsulas e comprimidos, onde se verifica que não houve interferência dos excipientes, tanto para o método espectrofotométrico (Figura 3A e B) quanto para o método cromatográfico (Figura 4). Os espectros dos invólucros das cápsulas indicaram, no entanto, interferência significativa no comprimento de onda de máxima absorção do AND (Figura 3C), inviabilizando o uso do método por espectrofotometria no ultravioleta para cápsulas. Essa interferência não ocorreu para o método cromatográfico, o qual se mostrou adequado para avaliar a dissolução de AND tanto em cápsulas quanto em comprimidos (Figura 4). Para comprimidos, ambos os métodos mostraram-se adequados, não havendo diferença entre os resultados obtidos (Tabela 3).

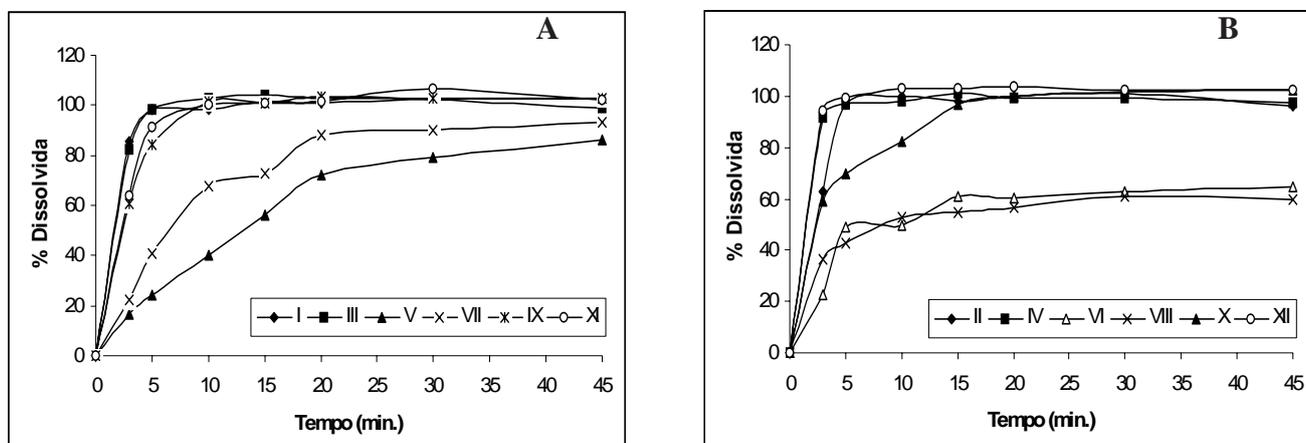


Figura 2 - Representação gráfica das porcentagens dissolvidas de anlodipino nas diferentes condições testadas. (A) Cápsulas - Produto A; (B) Comprimidos - Produto F.

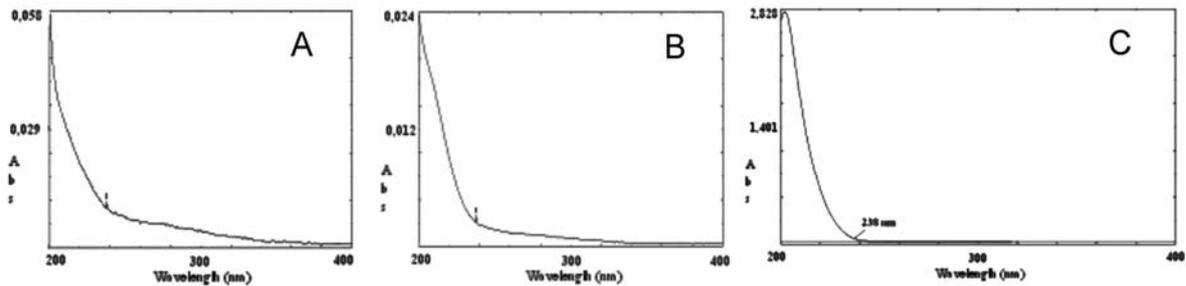


Figura 3 – Espectros de absorção na região do ultravioleta das amostras simuladas de excipientes, após dissolução em HCl 0,01N a $37,0 \pm 0,5$ °C: (A) comprimidos, aparato pá, 50 rpm; (B) cápsulas, aparato cesto, 50 rpm; (C) cápsula sem conteúdo, aparato cesto, 50 rpm. (observar diferença de escala entre as figuras).

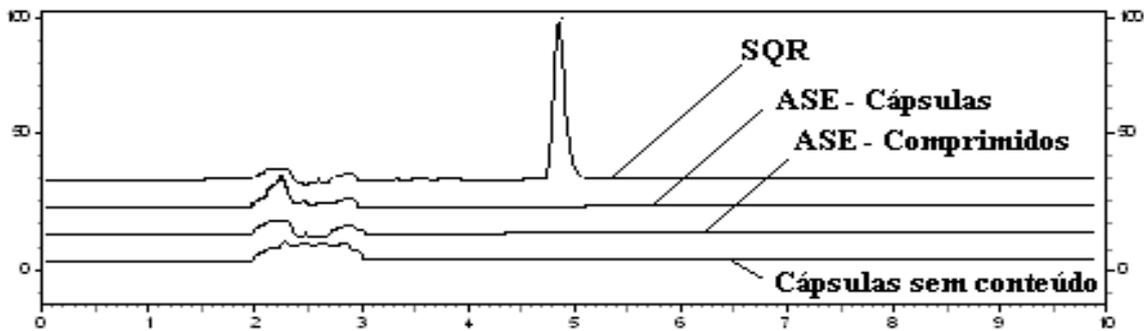


Figura 4 – Cromatogramas obtidos com anlodipino substância química de referência (SQR), amostra simulada de excipientes de cápsulas (ASE – cápsulas) e de comprimidos (ASE – comprimidos), e cápsula sem conteúdo, após dissolução em HCl 0,01N a $37,0 \pm 0,5$ °C, com aparato cesto (cápsulas) e pá (comprimidos) a 50 rpm.

Linearidade

Para avaliar a linearidade, foram construídas três curvas para o AND SQR. Gráficos de concentração *versus* resposta (área ou absorvância) foram plotados e mostraram linearidade adequada na faixa de 3,0 a 30,0 μ g/mL, com coeficientes de correlação superiores a 0,999 para ambos os métodos. As equações da reta obtidas foram: $y = 0,0315x + 0,0029$, para a espectrofotometria no ultravioleta e $y = 37517x + 1140,9$, para a cromatografia líquida de alta eficiência, onde x corresponde à concentração (μ g/mL) e y corresponde à resposta (área ou absorvância). As análises de variância (ANOVA) efetuadas sobre os valores de área ou absorvância das curvas de calibração demonstraram regressão linear significativa, sem desvio da linearidade ($P < 0,05$).

Precisão

Os resultados da precisão intra e entre-dias estão apresentados na Tabela 3, onde se verifica que os coeficientes de variação foram inferiores a 5%.

Exatidão

Na avaliação da exatidão, a percentagem de recuperação obtida por cromatografia líquida de alta eficiência variou de 96,6 a 103,98% para cápsulas e de 95,1 a 104,8% para comprimidos (Tabela 4). Para comprimidos (Tabela 4), a variação foi de 101,77 – 104,77% quando se utilizou a espectrofotometria no ultravioleta. Segundo Marques & Brown (2002), a recuperação deve estar entre 95 a 105%.

Avaliação da influência do filtro

Na Tabela 5 estão apresentados os resultados da avaliação dos filtros utilizados. Verifica-se que houve menor variação das absorvâncias quando se utilizou filtração simultânea com filtro quantitativo mais membrana de acetato de celulose 0,45 mm, sendo esse o procedimento de filtração adotado.

Avaliação da estabilidade do AND no meio de dissolução

Verifica-se, na Tabela 6, que o fármaco foi estável nas condições avaliadas, com variação na faixa de 98 a 102% (Marques & Brown, 2002).

Anlodipino: dissolução e estudo comparativo

Tabela 3 – Valores experimentais referentes à determinação da porcentagem dissolvida de anlodipino em cápsulas (Produto A) e comprimidos (Produto F), através de cromatografia líquida de alta eficiência (CL) e espectrofotometria no ultravioleta (UV), em dois diferentes dias.

Amostra	% dissolvida de anlodipino					
	Cápsulas		Comprimidos			
	1° dia	2° dia	1° dia		2° dia	
	CL	CL	CL	UV	CL	UV
1	107,84	101,27	101,33	105,01	100,75	102,75
2	99,45	94,99	101,84	100,92	100,84	102,69
3	96,63	109,70	99,26	101,32	99,34	103,80
4	96,80	98,85	95,85	93,71	93,64	97,12
5	102,87	103,23	98,34	96,14	95,35	99,11
6	100,80	99,64	101,64	97,90	96,89	100,26
Média	100,73	101,28	99,71	99,17	97,80	100,95
CV%	4,19	4,89	2,36	4,09	3,05	2,54

CV% = coeficiente de variação percentual

Tabela 4 – Valores experimentais do teste de recuperação realizado nas amostras simuladas de excipientes de comprimidos e cápsulas contendo anlodipino, obtidos através de cromatografia líquida de alta eficiência e espectrofotometria no ultravioleta.

Amostras	Quantidade de SQR (mg)		% de Recuperação	% de Recuperação Média
	Adicionada	Recuperada		
Cromatografia líquida de alta eficiência				
Comprimidos	0,7	0,72	102,45	100,78
	6,9	6,56	95,1	
	10,3	10,79	104,80	
Cápsulas	0,7	0,68	96,6	99,76
	6,9	6,81	98,7	
	10,3	10,71	103,98	
Espectrofotometria no ultravioleta				
Comprimidos	0,7	0,73	104,77	103,44
	6,9	6,99	101,34	
	10,3	10,73	104,20	

Anlodipino: dissolução e estudo comparativo

Tabela 5 – Resultados encontrados nas avaliações dos filtros utilizados para filtração da solução de anlodipino SQR e de amostras simuladas de cápsulas e comprimidos, obtidos por espectrofotometria no ultravioleta.

Tipos de filtração	SQR	Cápsulas	Comprimidos
	ABS	ABS	ABS
Sem filtração	0,442	0,596	0,565
Filtro quantitativo	0,448	0,502	0,483
Membrana de acetato de celulose com poro de 0,45µm	0,444	0,447	0,450
Filtro quantitativo + membrana de acetato de celulose com poro de 0,45µm	0,446	0,445	0,446

ABS = absorvância

Tabela 6 – Valores experimentais obtidos na determinação da estabilidade da SQR, amostra simulada de excipientes de cápsula e de comprimido, obtidos através da espectrofotometria no ultravioleta (UV) e cromatografia líquida de alta eficiência (CL).

Amostra	SQR (%)		Cápsula (%)		Comprimido (%)	
	UV	CL	UV	CL	UV	CL
Recém preparada	-	-	99,38	100,1	98,90	99,30
2 horas a 37,0 ± 0,5 °C	100,70	98,82	99,75	99,89	98,27	99,05
24 horas à temperatura ambiente	99,87	98,56	98,40	99,45	98,50	98,95

Estudo comparativo

Após a definição das condições de dissolução realizou-se estudo comparativo de dez produtos diferentes, na forma de cápsulas manipuladas e comprimidos. Os resultados dos testes de variação de peso, desintegração, dureza e friabilidade dos produtos analisados encontram-se na Tabela 7.

Na Tabela 8 estão apresentados os resultados das análises de teor, uniformidade de conteúdo e dissolução.

A identificação de AND nas amostras foi realizada por espectrofotometria no ultravioleta. Na Figura 5 estão apresentados os espectros da SQR e dos produtos A e F. Todos os demais produtos apresentaram espectros semelhantes, com máximos de absorção em 238 e 360 nm.

Anlodipino: dissolução e estudo comparativo

Tabela 7 – Valores obtidos na determinação de peso, desintegração, dureza e friabilidade dos produtos contendo anlodipino.

Produtos	Peso médio	Desintegração	Dureza	Friabilidade	
	(mg ± DP) (n=20)	(n=6)	(N) (n=10)	(%) (n=20)	
Cápsulas	A	171,8 ± 5,9	2 min e 20 seg	-	-
	B	191,0 ± 3,3	2 min e 7 seg	-	-
	C	187,3 ± 3,7	1 min e 16 seg	-	-
	D	160,0 ± 7,8	1 min e 23 seg	-	-
	E	154,9 ± 3,1	1 min e 56 seg	-	-
Comprimidos	F	200,1 ± 5,0	11 seg	47,91	0,16
	G	170,6 ± 2,3	10 seg	35,77	0,25
	H	59,8 ± 0,9	10 seg	23,34	0,21
	I	353,6 ± 1,7	15 seg	63,33	0,14
	J	200,4 ± 1,5	12 seg	38,15	0,33

DP = desvio padrão; N = Newton

Tabela 8 – Valores obtidos na determinação do teor, uniformidade de conteúdo e dissolução dos produtos contendo anlodipino.

Produtos	Teor (n=2)		Uniformidade (n=10)		Dissolução (n=6)		
	%	CV%	L.I. – L.S. (%)	CV%	%	CV%	
Cápsulas	A	94,4	1,0	92,3 – 103,5	4,7	96,8	5,8
	B	105,1	1,0	35,4 – 110,8	27,5	97,9	14,4
	C	101,4	0,1	98,1 – 104,0	1,8	100,8	2,0
	D	96,1	0,3	88,0 – 106,1	5,9	95,3	3,9
	E	97,4	0,7	95,6 – 100,1	2,2	96,2	1,5
Comprimidos	F	98,7	0,4	94,5 – 100,1	2,0	97,9	5,6
	G	99,7	0,9	89,9 – 101,0	3,4	99,8	5,3
	H	105,5	0,6	105,9 – 113,2	2,1	104,4	3,0
	I	97,7	0,7	95,7 – 98,8	1,1	95,9	2,8
	J	98,7	0,86	94,6 – 99,8	1,8	97,3	5,5

CV% = coeficiente de variação percentual; L.I. = Limite inferior; L.S. = Limite superior

Anlodipino: dissolução e estudo comparativo

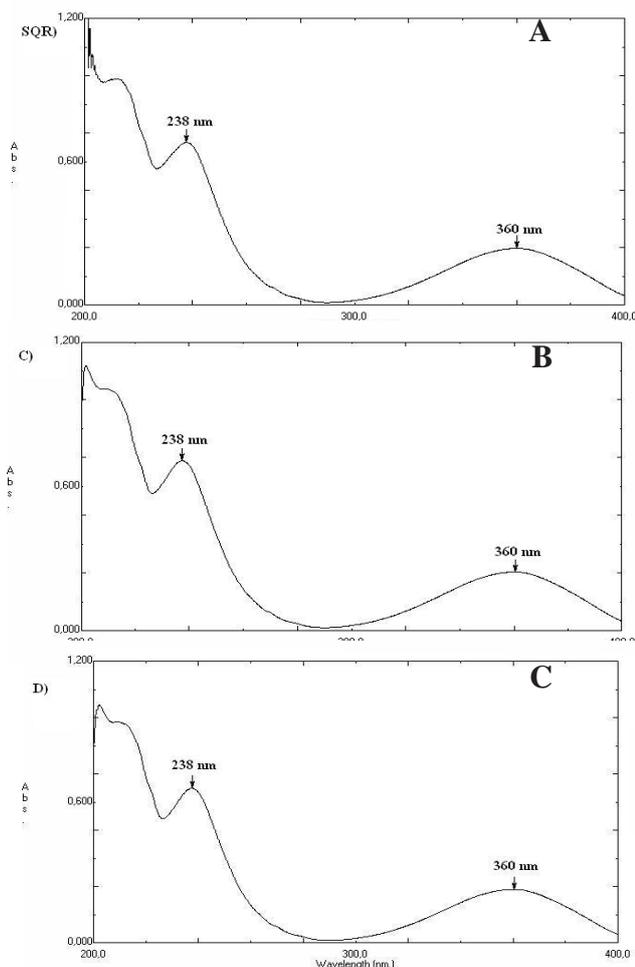


Figura 5 – Espectros de absorção na região do ultravioleta de anlodipino, na concentração de 20 µg/mL: (A) Substância Química de Referência; (B) Cápsulas – Produto A; (C) comprimidos – Produto F.

A representação gráfica das porcentagens de anlodipino dissolvido a partir dos produtos na forma de cápsulas e comprimidos encontram-se, respectivamente, na Figura 6 (A e B) e os valores de ED calculados estão na Tabela 9. Aplicando-se ANOVA aos valores de ED obtidos verificou-se diferença significativa tanto para cápsulas (F

calculado: 27,76; valor crítico de F para $P = 0,05$: 2,57), quanto para comprimidos (F calculado: 5,47; valor crítico de F para $P = 0,05$: 2,57).

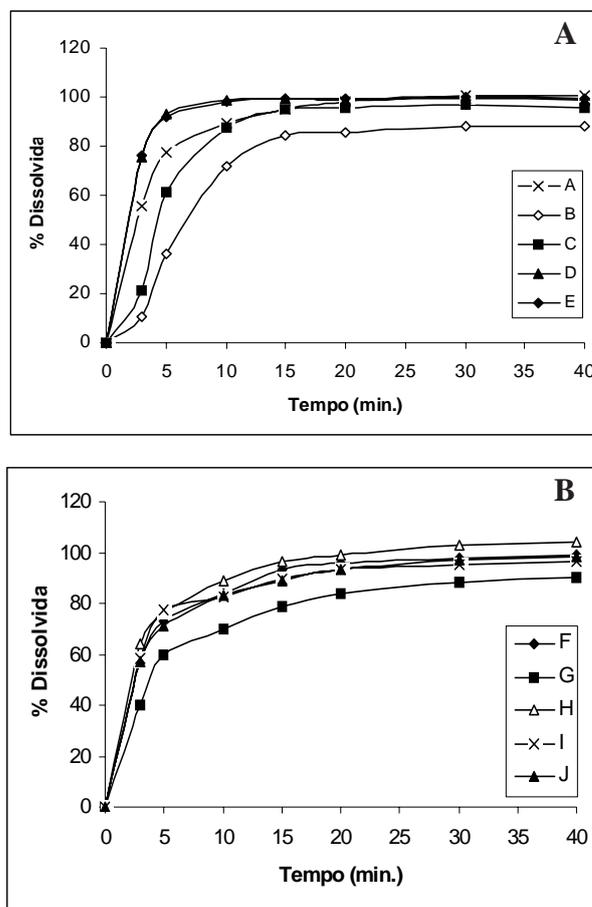


Figura 6 – Representação gráfica das porcentagens dissolvidas de anlodipino em 500 mL de HCl 0,01N a $37,0 \pm 0,5$ °C. (A) Cápsulas (Produtos A a E), aparato cesta, 50 rpm; (B) Comprimidos (Produtos F a J), aparato pá, 50 rpm.

Aplicou-se, então, o teste de Tukey, cujos resultados estão apresentados nas Tabelas 10 e 11, respectivamente para cápsulas e comprimidos.

Tabela 9 – Valores médios de eficiência de dissolução (ED) para os produtos estudados.

Produtos	Cápsulas (n = 12)					Comprimidos (n = 12)				
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
ED %	89,5	73,2	83,6	93,2	93,7	86,9	75,3	91,1	85,4	85,2

Tabela 10 – Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução encontrados para cápsulas.

Produto	Média (X)	X – 73,21	X – 83,63	X – 89,51	X – 93,25
E	93,68	20,47*	10,05*	4,17 ^{NS}	0,43 ^{NS}
D	93,25	20,04*	9,63*	3,74 ^{NS}	-
A	89,51	16,30*	5,88 ^{NS}	-	-
C	83,63	10,42*	-	-	-
B	73,21	-	-	-	-

* = significativo para $P < 0,05$; NS = não significativo para $P < 0,05$

Tabela 11 – Teste de Tukey aplicado aos valores de eficiência de dissolução encontrados para comprimidos

Produto	Média (X)	X – 75,26	X – 85,25	X – 85,42	X – 86,25
H	91,13	15,87*	5,88 ^{NS}	5,71 ^{NS}	4,18 ^{NS}
F	86,95	11,69*	1,70 ^{NS}	1,53 ^{NS}	-
I	85,42	10,16*	0,17 ^{NS}	-	-
J	85,25	9,99*	-	-	-
G	75,26	-	-	-	-

* = significativo para $P < 0,05$; NS = não significativo para $P < 0,05$

DISCUSSÃO

Com o desenvolvimento da tecnologia e das pesquisas envolvendo a liberação de fármacos, o teste de dissolução surgiu como indicativo para avaliação da qualidade das formas farmacêuticas sólidas de uso oral.

O AND, embora disponível comercialmente, não possui monografia farmacopéica ou método de dissolução descrito na literatura. Neste intuito, foi desenvolvido e otimizado teste para avaliar a liberação de AND nas formas farmacêuticas sólidas disponíveis no mercado nacional.

A solubilidade e a permeabilidade do fármaco, bem

como a estabilidade do mesmo no meio, são importantes propriedades que devem ser consideradas otimização do teste de dissolução (Kasin et al., 2004). As condições de ensaio devem permitir, também, poder discriminativo máximo e detecção de eventuais desvios dos padrões de qualidade inicialmente propostos (Manadas et al., 2002).

O volume de meio de dissolução pode variar de 500 até 1000 mL, sendo 900 mL o volume mais utilizado (USP 29, 2006). Deve-se assegurar, no entanto, que as condições *sink* sejam mantidas, para evitar que a velocidade de dissolução seja influenciada, artificialmente, pela aproximação da saturação durante a realização do teste

(Marques & Brown, 2002).

O aparato rotineiramente utilizado para cápsulas é a cesta, enquanto que para comprimidos utiliza-se freqüentemente o aparato pá, com velocidades de rotação variando de 50 a 100 rpm (USP 29, 2006).

A solubilidade do AND foi testada em diferentes meios e diferentes volumes. Verificou-se que volumes de 500 mL de HCl 0,01N, HCl 0,1N ou de tampão fosfato pH 6,8 foram suficientes para garantir a solubilidade do fármaco e a condição *sink*. A utilização de 500 mL de meio evitou, também, que o AND ficasse muito diluído, já que sua concentração nas formas avaliadas é de 5 mg/unidade.

Com base nos resultados obtidos (Figura 2), as condições otimizadas para cápsulas e comprimidos foram, respectivamente, a condição IX (500 mL de ácido clorídrico 0,01N, cesta e rotação de 50 rpm) e a condição X (500 mL de ácido clorídrico 0,01N, pá e rotação de 50 rpm).

As especificações para o teste de dissolução envolvem uma quantidade mínima dissolvida do fármaco em determinado intervalo de tempo (USP 29, 2006). Muitas monografias oficiais estabelecem que não menos que 75% do fármaco devem dissolver em 45 minutos. A farmacopéia britânica (*British Pharmacopoeia*, 2003) adota esse critério para a quase totalidade de suas monografias. Para fármacos altamente solúveis, uma especificação de único ponto, com no mínimo 85% de dissolução em 60 minutos ou menos é suficiente para comprovar a qualidade lote a lote do produto (Marcolongo, 2003; Brasil, 2003). Considerando esses critérios estabeleceu-se a seguinte especificação para avaliar a dissolução de AND nas condições sugeridas: no mínimo 85% do fármaco devem dissolver em 30 minutos.

O método de quantificação a ser utilizado na avaliação da porcentagem dissolvida de fármaco deve cumprir com os parâmetros de validação, tais como especificidade, linearidade, precisão e exatidão, além da avaliação do filtro e estabilidade do fármaco no meio de dissolução (USP 29, 2006; ICH, 1996, Marques & Brown, 2002). Dois métodos foram utilizados para avaliar a porcentagem de fármaco dissolvida: a cromatografia líquida de alta eficiência e a espectrofotometria no ultravioleta, os quais haviam sido desenvolvidos e validados para análise de teor de AND em comprimidos e cápsulas (Malesuik et al, 2006). Algumas alterações foram necessárias nos métodos propostos, antes de aplicá-los aos testes de dissolução. Nos métodos previamente desenvolvidos as amostras eram analisadas em água (espectrofotometria no ultravioleta) e fase móvel (cromatografia líquida de alta eficiência) e as concentrações utilizadas para avaliar a linearidade variavam de 50 a 150% da concentração de trabalho (10 a 30 µg/mL). Devido à baixa concentração do fármaco na formas farmacêuticas, as amostras foram analisadas, no teste de dissolução, diretamente no meio utilizado (ácido clorídrico 0,01N) e a faixa de linearidade foi ampliada (3 a 30 µg/mL). Devido a essas alterações, os métodos foram novamente validados, apresentando resultados satisfatórios quanto à linearidade, precisão e exatidão. Verificou-se, no entanto, que os constituintes do

involúcro das cápsulas apresentaram absorção significativa em 238 nm, inviabilizando o uso do método espectrofotométrico para essa forma farmacêutica.

A avaliação da influência do filtro no método proposto é muito importante e foi realizada visando verificar possíveis alterações na concentração do fármaco ou liberação de material para solução. Nessa avaliação foi utilizada a espectrofotometria no ultravioleta, pois a cromatografia líquida não possibilita o uso de amostras não filtradas, as quais podem danificar o equipamento e inutilizar a coluna cromatográfica. Na análise dos resultados obtidos (Tabela 5) verificou-se que não houve alteração significativa nas leituras de absorvância para a SQR antes e após a filtração com filtro, com membrana ou com ambos. Para as amostras de comprimidos e cápsulas verificou-se que a utilização apenas do filtro foi inadequada, pois as soluções ficaram turvas, interferindo nas leituras das soluções. As filtrações empregando apenas membranas de acetato de celulose de 0,45 µm deixaram as soluções límpidas, com resultados adequados. Ocorreu, no entanto, rápido entupimento, diminuindo a vida útil das mesmas. Os resultados utilizando filtro quantitativo + membrana ficaram dentro dos limites de $\pm 2\%$ de variação do teor dos placebos, permitindo maior número de filtrações e aumentando o tempo de utilização das membranas.

Os valores experimentais obtidos na determinação da estabilidade de soluções da SQR e amostras de cápsulas e comprimidos ficaram dentro da faixa estabelecida (98 – 102%), demonstrando que AND mantém suas propriedades nos parâmetros empregados, conforme Tabela 6.

Após o desenvolvimento do método de dissolução realizou-se estudo comparativo de alguns produtos disponíveis comercialmente, tendo em vista que existem, no mercado nacional, diversos laboratórios farmacêuticos e diversas farmácias de manipulação produzindo formas sólidas de uso oral contendo AND, e por ser esse fármaco indicado como de primeira escolha na terapêutica vasodilatadora anti-hipertensiva (Bisognano et al., 2004). As análises foram realizadas no sentido de verificar a qualidade desses produtos e contribuir para um estudo de intercambialidade dos mesmos. No presente trabalho foram avaliadas cápsulas manipuladas por cinco diferentes farmácias, e comprimidos produzidos por cinco diferentes indústrias farmacêuticas, incluindo o medicamento de referência.

Em relação à variação de peso e teste de desintegração, todos os produtos cumpriram com os limites estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira (1988), conforme se verifica na Tabela 7. Quanto aos testes de resistência mecânica (friabilidade e dureza), realizados com os comprimidos (Tabela 7), verificou-se que todos os produtos apresentaram friabilidade inferior a 1,5%, com resultados variando entre 0,14% a 0,33%, estando em acordo com a Farmacopéia Brasileira (1988). Para o teste de dureza, apenas o produto H apresentou valor inferior ao limite de 30 N indicado pela referida farmacopéia.

A presença do fármaco nas amostras foi verificada,

por espectrofotometria no ultravioleta, em todos os produtos. Os espectros de absorção obtidos para as dez amostras analisadas foram semelhantes àqueles obtidos com a SQR, com os mesmos máximos de absorção em 238 nm e 360 nm.

Os teores médios de AND obtidos para as cápsulas e comprimidos ficaram dentro de uma faixa de 90 a 110% da quantidade declarada de fármaco (Tabela 8). Verificou-se, no entanto, maior variação de teor entre os diferentes produtos analisados na forma de cápsulas. Entre o produto A (menor valor) e o produto B (maior valor) a diferença foi superior a 10%. Entre os comprimidos verificaram-se variações menores. As diferenças de teor entre os produtos G, H e I foram, em relação ao produto F (referência), < 1%. Todavia, a diferença entre o produto H e o produto F foi superior a 6%. Segundo a ANVISA, para ser submetido a estudo de bioequivalência, a diferença de teor entre o medicamento teste e o medicamento referência deve ser de, no máximo, 5% (Brasil, 2004).

Quanto ao teste de uniformidade de conteúdo (Tabela 8), todos os produtos, exceto B, cumpriram com as especificações da Farmacopéia Brasileira (1996) que estabelece que: “cada uma das dez unidades testadas deve apresentar quantidade de fármaco situada entre 85 e 115% do valor declarado, com CV% máximo de 6%. Se uma unidade estiver fora dessa faixa e nenhuma estiver fora da faixa de 75 a 125% ou se o CV% for maior que 6%, ou se ambas as condições forem observadas, deve-se testar mais 20 unidades”. O produto B apresentou dois valores abaixo de 75% (35,4% e 59%), além do coeficiente de variação ter sido superior ao permitido (27%), estando já reprovado nessa primeira etapa. Mesmo assim foram realizadas análises com mais 20 unidades, que comprovaram a falta de uniformidade do lote testado.

Em relação à dissolução, verificou-se que a porcentagem média dissolvida para todos os produtos foi superior a 95% em 30 minutos (Tabela 8). O produto B, no entanto, apresentou coeficiente de variação percentual elevado entre as seis unidades testadas, o que pode ser atribuído à falta de uniformidade encontrada para o mesmo.

Na avaliação dos perfis de dissolução (Figura 5), verifica-se que os valores de percentagem de fármaco dissolvido, para a grande maioria dos produtos testados, foram superiores a 85% já em 15 minutos de teste, e a comparação dos perfis pelo método modelo independente simples, que emprega fator de diferença (f) e de semelhança (f_2), não pôde ser aplicada. Foi possível, no entanto, calcular o parâmetro de eficiência de dissolução (ED), proposto por Khan & Rhodes (1975) (Tabela 9), o qual foi avaliado através de ANOVA, que indicou diferenças significativas ($P=0,05$) entre os mesmos, tanto para cápsulas como para comprimidos. Aplicando o teste de Tukey (Tabela 10), verificou-se que houve diferença significativa entre os valores de ED do produto B e os demais; do produto C com D e E, enquanto que o C foi semelhante ao A, havendo semelhança entre os perfis dos produtos A, D e E. Entre os comprimidos (Tabela 11) verificou-se que somente o

produto G apresentou perfil de dissolução diferente dos demais, havendo semelhança entre todos os outros produtos. As diferenças encontradas entre os perfis dos produtos B e G estudados poderiam alterar sua biodisponibilidade. Amidon et al. (1995) sugerem, no entanto, que produtos contendo fármacos de alta solubilidade e alta permeabilidade, como é o caso do AND, podem ser considerados bioequivalentes desde que apresentem dissolução de, no mínimo, 85% do fármaco em menos de 15 minutos. Apenas os produtos B e G não cumpriram com essa especificação. Para confirmar a bioequivalência entre os produtos seria necessário, no entanto, realizar estudos *in vivo*, já que não existe correlação *in vivo* – *in vitro* estabelecida para cápsulas e comprimidos contendo AND.

Com base nos resultados obtidos pode-se sugerir que, entre as cápsulas, os produtos A, C, D e E foram equivalentes farmacêuticos, pois apresentaram resultados satisfatórios em todos os testes a que foram submetidos. O produto B não cumpriu com as com as especificações farmacopéicas para o teste de uniformidade de conteúdo. Entre os comprimidos, os produtos F, I e J mostraram-se equivalentes farmacêuticos nos testes a que foram submetidos. O produto H, embora tenha apresentado resultados adequados nas análises de peso médio, friabilidade, desintegração, dissolução e uniformidade, não cumpriu com a especificação de dureza indicada Farmacopéia Brasileira IV ed. (1988), além disso, apresentou diferença de teor superior a 5% em relação ao medicamento de referência, não podendo ser submetido a estudos de bioequivalência (Brasil, 2004).

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPERGS pelo auxílio financeiro concedido.

ABSTRACT

Development of dissolution test and comparative study of tablets and compounded capsules containing amlodipine

Amlodipine is a drug widely used as an anti-hypertensive and anti-anginal agent and it can be bought in Brazil in the form of tablets and compounded capsules. The aim of this study was to develop a conditions for dissolution test and to evaluate the intercambiability of some commercial products containing the drug by physical and chemical tests, to assess weight variation, disintegration, hardness, friability, identification, assay, content uniformity, dissolution test and dissolution profile. In the development of the dissolution test, several experimental conditions were tried and the following parameters were

found to be satisfactory: 500 mL of 0.01 N hydrochloric acid at 37°C ± 0.5°C, as dissolution medium, in a basket or paddle apparatus for capsules and tablets, respectively, and 50 rpm rotation. A comparative study was made of capsules compounded in five different pharmacies, denominated A, B, C, D and E, and of tablets obtained from five different companies, denominated F, G, H, I and J. The products B (capsule) and H (tablet) failed the tests of content uniformity and hardness, respectively. The other products gave satisfactory results in all the tests.

Keywords: amlodipine; dissolution; pharmaceutical equivalence; quality control

REFERÊNCIAS

- Amidon GL, Lennernas H, Shah VP, Crison JR. Theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharm Res* 1995;12:413-20.
- Bisognano J, McLaughlin T, Roberts CS, Battleman D, Schwartz B, Garza D, Tang S. Incremental effectiveness of amlodipine besylate in the treatment of hypertension with single and multiple medication regimens. *Am J Hypertens* 2004;17:676-83.
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RE nº 901, de 29 de maio de 2003. Guia para ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata. Disponível em URL: <http://www.anvisa.gov.br>. [24 ago 2006].
- Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 310, de 01 de setembro de 2004. Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução. Disponível em URL: <http://www.anvisa.gov.br>. [24 ago 2006].
- British Pharmacopoeia. [book on CD-ROM]. London: Her Majesty's Stationary Office, 2003.
- Chowdary KPR, Rajyalakshmi Y. Dissolution rate in modern pharmacy. *East Pharm* 1987;30:51-4.
- Eisenberg MJ, Brox A, Bestawros AN. Calcium channel blockers: an update. *Am J Med* 2004;16:35-43.
- Farmacopéia brasileira. 4.ed., São Paulo: Atheneu; 1988. pt.1.
- Farmacopéia brasileira. 4.ed., São Paulo: Atheneu; 1996. pt.2.
- ICH Steering Committee. Validation of analytical procedures: methodology. In: International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use, Nov. 6; Geneva. Geneva; 1996. Disponível em URL: <http://www.ich.org>. [24 ago 2006].
- Kasin NA et al. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Mol Pharm* 2004; 1:85-96.
- Khan KA, Rhodes CT. The concept of dissolution efficiency. *J Pharm Pharmacol* 1975;28:48-9.
- Malesuik MD, Cardoso SG, Bajerski L, Lanzaova FA. Determination of amlodipine in pharmaceutical dosage forms by liquid chromatography and UV-spectrophotometry. *JAOAC Int* 2006;89(2):359-64.
- Manadas R, Pina ME, Veiga F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. *Rev Bras Cienc Farm* 2002;38:375-99.
- Marcolongo R. *Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica* [Dissertação] São Paulo: Faculdade de Farmácia, USP; 2003.
- Marques MRC, Brown W. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. *Rev Analytica* 2002;(1):48-51.
- Pita NOG, Prates EC, Ferraz HG. Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de ciprofloxacino 250 mg comercializados como similares no Brasil. *Rev Bras Cienc Farm* 2004;40(3): 309-45.
- Rodrigues PO, Stulzer HK, Cruz AP, Foppa T, Cardoso TM, Silva MAS. Equivalência farmacêutica entre comprimidos de propranolol comercializados no mercado nacional. *Infarma* 2006;18(3-4):16-21.
- The United States Pharmacopoeia 29th, Rockville, United States Pharmacopoeial Convention, 2006. p.2673-2677.